Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. E. H. Graul)
im Radiologiezentrum der Philipps-Universität Marburg

STRAHLENPATHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN ARTEMIA SALINA L. NACH EINWIRKUNG SCHWERER KERNE DER WELTRAUMSTRAHLUNG

Ergebnisse der BIOSTACK-Experimente an Bord von Apollo 16, Apollo 17 und Apollo-Sojus

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

JOACHIM LUKASSOWITZ
aus Andreashütte

Marburg 1978

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. E. H. Graul)
im Radiologiezentrum der Philipps-Universität Marburg

STRAHLENPATHOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN ARTEMIA SALINA L. NACH EINWIRKUNG SCHWERER KERNE DER WELTRAUMSTRAHLUNG

Ergebnisse der BIOSTACK-Experimente an Bord von Apollo 16, Apollo 17 und Apollo-Sojus

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Humanmedizin der
Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

JOACHIM LUKASSOWITZ
aus Andreashütte

Marburg 1978

Druck: Görich & Weiershäuser, Marburg

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Universität Marburg am 27. 1. 1978

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. F. Neurath

Referent: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. E.H. Graul

Correferent: Dozent Dr. rer. nat. W. Rüther

Meinen Eltern, Geschwistern
und meiner Freundin gewidmet

Keine Straße
ist lang mit
einem Freund
an der Seite

-japanisch-

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
A.	Einleitung	1
B.	Literaturbesprechung	3
C.	Material und Methoden	6
	1. Das Experiment Biostack	6
	2. Das Versuchstier Artemia salina (L.)	6
	3. Die histologischen Untersuchungsmethoden	9
	4. Die Dokumentation und Beschreibung der histologischen Schnitte	11
D.	Beschreibung des Normaltieres (ld-Nauplius) aus embryologischer, makro- und mikroskopischer Sicht.	12
	1. Embryologische Entwicklung	12
	1a. Die Stadien der Gastrulation	13
	1b. Die Naupliusstadien	18
	1c. Der geschlüpfte Nauplius	20
	2. Makroskopische und mikroskopische Anatomie	22
	2a. Die Körpergrundgestalt	22
	2b. Die Kopfregion	23
	2c. Labrum	24
	2d. Neckorgan	25
	2e. Die Stammregion	26
	3. Entwicklung des Nauplius zum adulten Tier	29

E. Ergebnisse der pathologisch-anatomischen und pathologisch-histologischen Untersuchungen an Artemia salina (L.) — Seite 30

1.) Gruppe 1: Keine Entwicklung im Ei — 32

2.) Gruppe 2: Eischale geöffnet, aber keine Organentwicklung in der Eihülle erkennbar — 32

Gruppe 2a: Exovum mit histologisch differenzierbarer Organentwicklung — 33

Gruppe 2b: Exovum mit histologisch nicht differenzierbarer Organentwicklung — 34

3.) Gruppe 3: Eischale geöffnet, vollentwickelte Naupliuslarve in der Eihülle erkennbar, aber kein Zerreißen der Eihülle — 36

4.) Gruppe 4: Eischale geöffnet, Nauplius schlüpft aus der Eischale (frei schwimmende Larve) — 37

Gruppe 4a: Malformation der Extremitäten — 38

Gruppe 4b: Deviation des Abdomens — 39

Gruppe 4c: Mehrfachbildung des Kopfes, des Abdomens und der Extremitäten — 42

Gruppe 4d: Malformation durch verdrängend wachsende Gewebe — 46

5.) Die weitere Entwicklung von Artemia salina (L.) aus von Schweren Primären getroffenen Eiern — 54

		Seite
F.	Diskussion / Besprechung der Ergebnisse	55
G.	Zusammenfassung	62
H.	Abbildungen	65
I.	Literaturverzeichnis	92

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546010_0065

A. Einleitung

In der vorliegenden Arbeit werden die Strahlenschäden untersucht, die sich bei der Entwicklung von Artemia salina (L.) (Salzkrebs) zeigen, wenn das Ei von einer "Schweren Primären" (Weltraumstrahlung mit hoher Ladung Z und hoher Energieabgabe = HZE-Teilchen) getroffen wurde.

Durch die Teilnahme an den letzten Weltraumflügen (Apollo 16, 17 und Apollo-Sojus) mit den BIOSTACK-Experimenten war es möglich, die noch unbekannte Wirkung dieser speziellen Weltraumstrahlung zu untersuchen.

Bei der Strahlenbelastbarkeit für den Menschen (Astronauten) ist zu unterscheiden zwischen den Schädigungen des Individuums und denen seiner Erbsubstanz. Interessanterweise zeigen Tierversuche, daß feststellbare genetische Schäden erst bei Strahlendosen auftreten, die für den Organismus als Individuum ebenfalls Schädigungen zur Folge haben. Die ionisierenden Strahlungen, denen ein Organismus außerhalb der Atmosphäre ausgesetzt ist, stammen aus zwei Quellen: einerseits von der Sonne und andererseits aus den Tiefen des Weltraums. Sie unterscheiden sich weniger ihrer Zusammensetzung nach - beide bestehen zum weitaus größten Teil aus Wasserstoffkernen (86 % Protonen) daneben 13 % Alphateilchen und einem geringeren Teil (etwa 1 %) aus schweren Atomkernen, vor allem des Kohlenstoffs, Sauerstoffs und Stickstoffs - sogenannte Schwere Primäre -. Daneben finden sich auch γ- Strahlung (sogenannte Höhenstrahlung), Röntgenstrahlung, sowie durch Kerninteraktion gebildete "Sekundärstrahlung" wie Mesonen, Neutronen u.a. - außerhalb der Luftschicht spielen diese im "reinen Weltraum" eine untergeordnete Rolle -. Selbst die Sonne ist eine wenn auch schwache Quelle einer solchen Strahlung. Bei "ruhiger" Sonne werden lediglich Teilchen mit niedriger Energie als sogenannter Sonnenwind abgestrahlt. Die Geschwindigkeit dieser Teilchen beträgt 300 Kilometer/Sekunde, ihre Energie ist damit so gering, daß sie nicht in der Lage sind, große Schichten einer Materie zu durchdringen.

Gefährlicher ist die galaktische Strahlung mit Energien zwischen einigen Millionen (10^6 eV) und mehreren Tausend Billionen Elektronenvolt (10^{15} eV und mehr). Derart hoch beschleunigte Teilchen lassen sich technisch nicht erzeugen; es ist die energiereichste Strahlung die wir überhaupt kennen.

Sie erzeugt bei Absorption in Materie - und somit auch im menschlichen Gewebe - Bahnspuren hoher Ionisationsdichte mit entsprechend starker biologischer Wirkung (vor allem am Ende der Bahnen -thin down hits).

Beim Eindringen in Körpergewebe ruft ein solches Mikrogeschoß eine Bahnspur hervor, die zunächst unmerklich fein ist, gegen Ende aber eine hohe Ionisationsdichte aufweist. Das Endstück der Bahn - unter Umständen zentimetertief im Innern des Gewebes - ist etwa 1 mm lang und 1/40 mm breit. An sich "ganz winzig"; trotzdem schließt dieses keulenförmige Volumen schon ca. 15 000 Zellen ein. In Anbetracht der Milliardenzahl von Zellen in jedem Gewebsareal oder Organ dürfte daraus nur ein geringer Schädigungseffekt resultieren. Doch verhält es sich anders bei Sporen, Samen und Eiern, die der Fortpflanzung dienen.

Der primäre Strahlenschaden kann sich so in der Embryogenese sehr potenzieren.

B. Literaturbesprechung

Betrachtet man die bisherigen strahlenbiologischen Ergebnisse bei Untersuchungen mit Partikelstrahlung hoher Energien (HZE-Teilchen), so sind die Auswirkungen auf den Organismus besonders bei längerdauernden Weltraumflügen noch nicht ausreichend geklärt. Dieses Problem hat eine qualitative und eine quantitative Seite (BÜCKER, H. et al., 1973; GRAUL, E.H. and RÜTHER, W. 1973; FLEISCHER, R.L. et al. 1965; GRAHN, D. 1973; PARETZKE, H.G. 1973; FAIN, J. 1973; MUGA, M.L. 1974; SCHÄFER, H.H. 1975).

Die strahlenbiologische Effektivität derartiger Strahlenkomponenten läßt sich zur Zeit deshalb noch nicht befriedigend abschätzen, weil deren quantitatives und zeitliches Auftreten in bestimmten Gebieten noch weitgehend unbekannt und ihre relative biologische Wirksamkeit noch nicht befriedigend bestimmt ist (GRAUL, E.H. 1970; LANGHAM, W.H. 1967).

Weiter ist, von Protonenschauern solarer Eruptionen abgesehen, der Strahlenfluß relativ gering, so daß rem-Belastungen auftreten, die im Bereich des natürlichen Strahlenpegels liegen (ALLKOFER, O.C. et al. 1969). Aber die Schweren Primären, mit hoher Energie beladene Kerne, (besonders Elemente der Eisen-Nickel-Gruppe) erzeugen beim Einschlagen in Materie (Abb.2), somit auch im menschlichen und tierischen Gewebe Bahnspuren hoher Ionisationsdichte mit entsprechend starker biologischer Wirkung. (EUGSTER, J. 1955, 1960,1963,1964).

So können, wenn auch die Intensität und Menge dieser Strahlung (1,5 Treffer pro cm^2 (Apollo 16) gering ist, trotzdem erhebliche Strahlenschäden entstehen (BÜCKER, H. et al. 1974). Man muß auch unter Umständen bei Alterationen z.B. determinierter Zellen in der Embryogenese mit einer Summation von Einzeleffekten rechnen (BALLARDIN, F. and METALLI, P. 1965). So haben die Astronauten Lichtblitze bei geschlossenen Augen

gesehen (BENSON, R. E. et al. 1972; BUDINGER, T.F. 1971). Durch Laboruntersuchungen ließ sich zeigen, daß diese Erscheinungen durch einzelne Treffer Schwerer Ionen auf die Netzhaut ausgelöst werden oder auch durch die im Glaskörper induzierte Cerenkov-Strahlung entstehen. Ferner hat sich gezeigt, daß durch Treffer im Bereich der Haarwurzeln die Haare ergrauen können (CHASE, H.B. et al. 1954, 1956; CURTIS, H.J. 1963). Außerdem wird vermutet, daß der Einschlag Schwerer Ionen innerhalb der Augenlinse Trübungen auslösen kann. SALLMANN, v. L. et al. 1962; HAYMAKER, W. 1970; PFISTER, A. et al. 1976 berichteten über Zellschädigungen am Gehirn von Affen bzw. Ratten nach dem Einfall von Schweren Kernen.

Schon EUGSTER konnte (1955) in Experimenten mit Artemia sanina (L.) bei Ballonflügen Strahlenschäden in der embryonalen Entwicklungsphase nachweisen. Die Dosiseffektkurve von Gammastrahlen, Neutronen und sogar für Heliumkerne (Z=2) sind bei Artemia salina, wenn man die Entwicklung zur Nauplius-larve betrachtet, sigmoidal (DEERING, R.A. 1961; HUTCHINSON, F. and EASTER, S. 1960; EASTER,S. and HUTCHINSON, F. 1961; IWASAKI, T. 1964, 1965, 1966, 1969, 1970, 1971). Bestrahlt man aber die Eier mit 160-MeV-Sauerstoffionen, dann ergibt sich eine exponentiale Überlebenskurve. Diese Erscheinung wird zum Teil dadurch erklärt, daß Teilchen mit hohem linearen Energietransfer (LET), wie hier die Sauerstoffionen, in der Lage sind verhältnismäßig große Zellbereiche im Ei oder biochemische Moleküle (Enzyme) so zu schädigen, daß ein Ausfall dieser Zellen die Embryogenese gefährdet (EASTER, S. 1961; IWASAKI, T. 1971; METALLI, P. et al. 1972). Alle strahlenbiologischen Untersuchungen an Artemia salina haben ferner eine hohe Strahlenresistenz erkannen lassen, wenn die Eier dieses kleinen Krebses mit Röntgen-, ^{60}Co-γ- oder Neutronenstrahlen behandelt wurden (ANGELOVIC, J.W. and ENGEL, D.W. 1968; BALLARDIN, E. and METALLI, P. 1965, 1972; IWASAKI, T. 1966, 1971). Die LD_{50} (3d) für ^{60}Co-γ-Strahlung betrug 158 krad und für 2-MeV-Neutronen

33 krad (EASTER, S. and HUTCHINSON, F. 1961; IWASAKI, T. and MARUYAMA, T. 1971).

Diese relativ geringe Strahlensensibilität wird verständlich, wenn man bedenkt, daß das Ei in dieser Phase der Entwicklung eine inaktive Blastula ohne Zellproliferation und ohne nachweislichen Stoffwechsel enthält (IWASAKI, T. et al. 1971). Ein Respirationsquotient (Q_{CO_2}/Q_{O_2}) ist in dieser Ruhephase nicht nachzuweisen (URBANI, E. 1953; MURAMATSU, S. 1960; HENTIG, R. 1971; FAUTREZ, J. and FAUTREZ-FIRLEFYN, N. 1963,1968,1969,1970). Die Zellen sind in der Gastrulation determiniert (BENESCH, R. 1969; NAKANISHI, J.H. et al. 1962, 1963). Strahlenschäden an den Zellen der Blastula, die möglicherweise zu einem Ausfall bestimmter Blastulateile führen, können nicht mehr reguliert werden.

Die Zellzahl für die Blastula beträgt 4142 ± 52 und für die Naupliuslarve 4401 ± 86 (NAKANISHI, J.H. 1960), sie hat also nicht signifikant zugenommen. Die Entwicklung im Ei besteht daher im wesentlichen im einer Umschichtung der Zellen mit anschließender morphologischer und histologischer Differenzierung, wobei aber nur relativ wenig neue Zellen entstehen, was besonders für die Gastrula II zutrifft.

C. Material und Methoden:

1) Das Experiment Biostack

Das BIOSTACK ist ein zylinderförmig geschichtetes Paket von 10 cm Höhe und 10 cm Durchmesser. Es ist im Kommandoteil von Apollo 16, Apollo 17 und Apollo-Sojus mitgeflogen. Die verschiedenen Schichten des BIOSTACK enthalten ausgewählte biologische Objekte (Bakterien - Bazillus subtilis; Pflanzensamen - Arabidopsis thaliana; und Salzkrebseier - Artemia salina; GRAUL, E.H., RÜTHER, W. 1973); die zwischen verschiedenen physikalischen Kernspur-Detektorschichten eingebettet sind. Hier sind es Kernspur-Emulsionen, Plastik-Detektoren und Kristalle. Sie geben Informationen über Kernladungszahl, Energie und Richtung einfallender Höhenstrahlungsteilchen. Die biologischen Objekte sind unter dem Gesichtspunkt ausgesucht, besonders intensiv erforschte Standartobjekte zu verwenden, die eingebettet in erstarrtem, aber wasserlöslichem Plastikmaterial (PVA) über längere Zeit ihre Lebensfähigkeit behalten.

Im Sinne vergleichender Untersuchungen werden an den gleichen biologischen Objekten auch auf der Erde Bestrahlungen mit α-Teilchen, Protonen, Elektronen und Röntgenstrahlen sowie vor allem auch Schweren Ionen von Beschleunigern vorgenommen (z.B. in Berkeley/Californien; Yale/New Haven; und am CERN/Genf). Außerdem werden analoge BIOSTACK-Versuche in Stratosphärenballons geflogen.

2) Das Versuchstier Artemia salina (L.)

Artemia salina (L.), auch Salzkrebs genannt, gehört zur Ordnung der Branchiopoden, Unterordnung Euphyllopoden und lebt in Salzseen. Die Eier des adulten, etwa 12 mm großen

Tieres sind um 210 Mikrometer groß und müssen nach der Ablage eine Trockenphase durchlaufen. Der Embryo befindet sich hiernach in der ersten Gastrulationsphase.
In diesem Stadium behält das Ei über mehrere Jahre hinweg seine Lebensfähigkeit. Eine dicke Eischale mit darunterliegender Eihaut schützt das Ei vor Austrocknung und mechanischer Verletzung.

Will man im Labor eine Weiterentwicklung der Eier zur Naupliuslarve erreichen, so bringt man sie in spezielles Salzwasser. Aus einer Anzahl verwendeter Kulturmedien erhielten wir mit einer 1,5%igen "Saltemia"-Salzlösung (Tetra Werke, Melle) Schlupfausbeuten von etwa 90 %.
Die Entwicklung von der Gastrula zur Naupliuslarve dauert bei einer Wassertemperatur von 25-28^{o} etwa 1-2 Tage.
Der eigentliche Schlupfvorgang vollzieht sich folgendermaßen: die Eischale bricht auf und die Naupliuslarve kommt, noch von einer Eihaut umgeben aus dem Ei (emergence).
Nach einigen Stunden zerreißt die Larve durch Bewegungen der Extremitäten die Eihülle (hatching) und schwimmt frei im Wasser. In speziellem Seewasser (3% Mikrozell Artemia Salz, Dohse, Bonn) mit Salzseealgen (Dunaliella viridis) als Futter entwickelt sich aus dieser Larve innerhalb von drei bis vier Wochen ein geschlechtsreifer Krebs. Als Zuchtmedium für Dunaliella viridis wurde Salzseewasser, modifiziert nach Schreiber, verwandt.

Die Artemia salina Eier ließen sich mit Hilfe spezieller Plastikformen in Polyvinylalkohol (PVA) einbetten.
Hierbei war es wichtig, möglichst wenig Wasser als Lösungsmittel zu verwenden, um nicht eine vorzeitige Weiterentwicklung zur Gastrula II anzuregen. Es ist nicht anzunehmen, daß PVA die Gastrulazellen erreicht, da Dimethylsulfoxid, das sonst sehr schnell in tierische Zellen eindringt, selbst als 20%ige Lösung die relativ dicke Zystenschale nicht zu

durchdringen vermag. Auch kann, wie Versuche gezeigt haben, ein absolutes Fehlen von Sauerstoff, z.B. in Salzkristallen an den Rändern austrocknender Salzseen, ohne Schaden überdauert werden (HENTIG, R. 1971). Metabolische Aktivitäten scheinen nicht abzulaufen, da die Quantität der in Form von Kohlehydraten abgelagerten Energiereserven über einen langen Zeitraum (28 Jahre) unverändert vorliegt (CLEGG, J.S. 1967). Ein O_2-Verbrauch ließ sich nicht nachweisen; auch radioaktives ^{14}C als CO_2 wurde nicht aufgenommen (CLEGG, J.S. 1967).
Somit waren aus den oben genannten Gründen die Artemia salina Eier im besonderen Maße für die Untersuchungen im Weltraum geeignet. Es handelte sich dabei in allen Versuchen um besonders ausgesuchte Eier der Firma Tetra-Werke (Dr. Baensch), Melle, vom Großen Salzsee in Utah (USA).

In den eigenen Untersuchungen, die darüber Auskunft geben sollten, ob eine Schädigung der Eier, eingebettet in PVA, erfolgt, zeigte sich keine Abnahme der Schlupfquote.
In der Embryogenese darf die Sauerstoffspannung nicht zu gering sein (3 ml O_2/l), wird dieser Bedarf nicht befriedigt, können die Nauplien absterben. Adulte Artemien dagegen haben hinsichtlich des O_2- Gehaltes im Salzwasser eine viel größere Toleranz. Der Salzgehalt des Mediums beeinflußt den Schlupfprozeß vor allem dadurch, daß der äußere osmotische Druck während der Hydrierung der Zysten die Fähigkeit, genügend weiteres Wasser aufzunehmen, begrenzt. Bei Konzentrationen von mehr als 9% bleiben daher die Eischalen semikonkav eingedellt, selbst wenn sie über Wochen kultiviert werden.

Die Nahrungsbedürfnisse der Artemien sind im Laboratorium relativ leicht durch die grüne Alge Dunaliella viridis zu befriedigen. Sie wird in Erlenmayerkolben kultiviert und in konzentrierter Form den Artemia Aquarien zugesetzt.

Für die Mission von Apollo 16,17 und Apollo-Sojus wurden die Artemia salina Eier einmal in eine Schicht Polyvinylalkohol eingebettet, ferner ließen sie sich auch in unmittelbarem Kontakt auf Zellulosenitrat (Strahlendetektorschicht) anordnen.

Nach erfolgtem Flug konnten die von Schweren Primären getroffenen Eier in Verbindung mit den Kernspurdetektorschichten und einem Zahlenquadratnetz bestimmt werden. Mit Hilfe einer Lupe war es möglich, diese Eier in den PVA-Platten, die wiederum auf ein Zahlenquadratnetz gelegt wurden, zu finden. Mit einem Augenskalpel konnten sie dann einzeln und unbeschädigt herausgeschnitten und von dem anhaftenden PVA abgelöst werden. In kleinen Blockschalen erfolgte die weitere Kultur.

3. Die histologischen Untersuchungsmethoden

Die Kontrolle des Schlupfvorganges begann 12 Stunden nach Einsetzen der isolierten Eier in das Kulturmedium über die gesamte Entwicklungszeit.
Die als pathologisch erkannten Objekte (1 Tag alte Nauplien und Eistadien) wurden mit der Lupe herausgesucht und getrennt weiterbehandelt. Nach der makroskopischen Untersuchung und der Dokumentation durch Zeichnung und Fotografien, wurden die Objekte in Bouin fixiert und in Alkohol konserviert.

Jedes Exemplar erhielt eine eigene Untersuchungsnummer, die es die gesamte Untersuchungsdauer bis zum fertigen Präparat und bis zur endgültigen histologischen Dokumentation und Beschreibung beibehielt.

Die Entwässerung in einem Methanol/Methylbenzoat-Gemisch in der Zusammensetzung nach FLÓREZ-COSSIO (im Druck), durchliefen die Objekte einzeln. Die Einbettung erfolgte in

Tissumat, wobei sie im noch flüssigen Tissumat mit einem feinen Haarpinsel derart orientiert wurden, daß die Schnittebenen in Längsrichtung der jeweiligen pathologischen Variation gelegt werden konnten.
Die Tissumatblöckchen, mit einem Radius von 5 cm und einer Höhe von 2 cm, in denen wiederum nur jeweils ein Tier eingebettet war, wurden in kleine Blöckchen zerteilt und mit Hilfe einer automatischen Schneidemaschine 7 µm dick geschnitten.

Als Färbungen boten sich an: H-E - Färbung; die Färbung nach v. Gieson; Anfärbung der sauren Muccopolysaccharide mit Fe III; Alcianblau/Kernechtrot; PAS-Färbung; und die DNS-Färbung nach HCl-Hydrolyse und Behandlung mit Schiff'schem Reagenz. Es wurde in der Art gefärbt, daß in einer Färbeküvette 10 Präparate gleichzeitig den gesamten Prozeß durchliefen. Dadurch konnten Einheiten geschaffen werden, die unter exakt gleichen Bedingungen gefärbt waren. Dabei waren die einzelnen Blöcke so bestückt, daß sich zwischen Nauplien und normalen Eiern auf der einen Seite und pathologischen Nauplien und Eiern auf der anderen Seite eine paritätische Verteilung ergab. Auch beim Mikroskopieren wurde diese Einteilung beibehalten und alle Ergebnisse innerhalb einer Einheit miteinander verglichen, um prozeßbedingte Störgrößen ausschließen zu können. Die Färbungen waren dadurch innerhalb der einzelnen Blöcke ausgeglichen, leichte Streuungen in der Anfärbbarkeit kamen vor. Die besten Ergebnisse ließen sich in der v. Gieson- und der Fe III - Färbung beobachten. Weniger gute Ergebnisse erbrachten die PAS- und die DNS- Färbung.

Die zum Studium der normalen Anatomie und Histologie erforderlichen Nauplien und Eier wurden mit der gleichen Methodik aufgearbeitet, jedoch erfolgte hier die Fixierung in einem Glutaraldehyd-Formalin-Fixans, das von FLÓREZ-COSSIO (im Druck) angegeben wurde. Geschnitten wurde in den drei bekannten Ebenen, wobei die Schnittdicke 7µm betrug, bei den Eiern 2, 4 und 6 µm.

4. Die Dokumentation und Beschreibung der histologischen Schnitte.

Um relevante Vergleichsmöglichkeiten zu erhalten, wurden zunächst die normalen Nauplien und Eier untersucht. Erst im zweiten Arbeitsgang, nachdem die normale Anatomie und Histologie bekannt war, folgte die pathologische Anatomie und Histologie.
Die Objekte wurden zunächst mikroskopisch dargestellt und mit Hilfe des Wild-Zeichentubus gezeichnet.
Die Fotographien ausgewählter Schnitte erfolgte am Zeiss-Fotomikroskop mit verschiedenen Filtern, die je nach Färbemethode und Anfärbung der einzelnen Präparate ausgesucht wurden.

Während der gesamten histologischen Aufarbeitung ergaben sich zwei besondere Schwierigkeiten. Zunächst waren die Objekte bei einer Größe von nur 300 µm einzeln zu prozessieren. Das Problem konnte jedoch mittels kleiner Hütchen, die aus glattem Papier gefalten werden mußten, gelöst werden; an diese Hütchen ließen sich die Untersuchungsnummern befestigen. Das zweite Problem ergab sich aus der Tatsache, daß die Entstehung der Gewebe und Zellformationen pathologisch veränderter Tiere von der Gastrula an nicht beobachtet werden konnte. Es war auch nicht möglich, die Stadien dieser Tiere vom adulten Tier her retrograd zu verfolgen, da wir verständlicherweise von jeder pathologischen Variante nur ein Exemplar erhalten konnten. Aus diesem Grunde wurden die pathologisch veränderten Gewebe nach cytologischen und topographischen Parallelen zum Normaltier identifiziert und gedeutet.

D. Beschreibung des Normaltieres (Nauplius) aus embryologischer, makro- und mikroskopischer Sicht.

Für das Studium der pathologischen Zustandsformen und zum Verständnis der Ergebnisse ist es wichtig, die normale Anatomie und Histologie von Artemia salina (L.) zu untersuchen und darzustellen. Wegen der entwicklungsgeschichtlichen Fragestellung des Gesamtthemas kann man im folgenden die Ergebnisse auch der normalen Anatomie und Histologie in einem entwicklungsphysiologischen Rahmen darstellen. Stadien besonderer Wichtigkeit, wie die erste Gastrulation und die Stadien vor und nach dem Schlupf, werden eine größere Beachtung erfahren.

1. Embryologische Entwicklung

Die Entwicklung beginnt mit der Wanderung der Oocyte I aus dem Ovar in den Ovidukt des adulten weiblichen Tieres; die Eier sind dottereich und ihre Kerne machen auf dieser Wanderung die Pro- und Methaphase der ersten Reifeteilung durch. In diesem Stadium bleiben sie in dem aufgetriebenen Ovidukt liegen; bei bisexuellen Rassen bis zur Begattung und bei parthenogenetischen Rassen bis zu 4 Stunden.

Etwa 50min. nach der Begattung (nach 4 Stunden bei parthenogenetischen Rassen) treten die Oocyten I in den Uterus über.

Etwa 5 Stunden nach der Begattung haben sich männlicher und weiblicher Vorkern getroffen.

Etwa 6 Stunden nach der Begattung ist die I. Furchungsteilung beendet. Sie verläuft total und äqual mit gleichmäßiger Dotterverteilung.

Die nachfolgenden Furchungen führen über das 2,4,8,16-Zellen-Stadium weiter bis mit dem 512-Zellen-Stadium das letzte Stadium der Blastula erreicht ist. Während dieser Entwicklung

hat die Blastula an Umfang zugenommen, so daß das Endstadium sich mit stark eingeengtem Blastocoel und relativ hohen Zelleibern darstellt.

1a. Die Stadien der Gastrulation

Gehen wir davon aus, daß die Gastrulation das Material von Mesoderm, Keimzellen und Entoderm in das Innere des Keimes befördert, so findet sie bei Artemia salina in zwei Phasen statt (BENESCH 1969).
In der 1. Gastrulation gelangen Mesoderm und Keimzellen, in der 2. Gastrulation das Entoderm in den Keim.
Die beiden Immigrationspole liegen sich dabei in einem Winkel von etwa 120° gegenüber.

Die erste Gastrulation

Die erste Gastrulation ist eine polare Immigration (BENESCH 1969). Die Zellen wandern in das Innere und bilden einen Immigrationskegel, der sich in das Blastocoel vorwölbt, das Wachstum des Kegels erfolgt allerdings nicht gradlinig, sondern in seitlicher Neigung.
An der Berührungsstelle Immigrationskegel-Blastocoel scheint sich das Blastoderm zu erhöhen. Aus ihm geht später die dorsale Atemplatte hervor.

Etwa 48 - 50 Stunden nachdem die Eier in den Ovidukt eingetreten sind, beginnt die Ablage der Dauereier im Stadium der jungen Gastrula. Für die Versuche der BIOSTACK-Serie ist dieses Stadium von besonderer Wichtigkeit, da das biologische Material in diesem konkreten Zustand den Weltraumbedingungen ausgesetzt worden ist (Abb. 1 und Abb. 5).

Die Weibchen von Artemia salina machen neben mehreren viviparen Bruten eine Anzahl oviparer Bruten durch. Unter Laborbedingungen werden etwa 2-3 mal Subitaneier gebildet bis es zur Ablage von Dauereiern kommt. Die Subitaneier entwickeln sich im Uterus des Weibchens bis zum schwimmfähigen Nauplius weiter. Die Dauereier werden unter natürlichen Bedingungen in den großen Salzseen hauptsächlich im Herbst abgelegt, sie sind durch ihre besonderen biologischen Fähigkeiten in der Lage, die harten Winterperioden im ausgetrockneten, teilweise hart gefrorenen Schlamm und Schnee zu überstehen. Im Frühjahr schlüpfen dann die Nauplien, wenn bei der Schneeschmelze große Süßwassermengen in den See einströmen. Die Salzkonzentration ist dann optimal.

Fähigkeiten der Dauereier

Die biologischen Eigenschaften der Dauereier bestehen hauptsächlich in:

- der Kryptobiose oder Diapause,
- der äußerst dicken und widerstandsfähigen Außenschale.

Die Kryptobiose ist als Zustand definiert, in dem ein Organismus kein Lebenszeichen erkennen läßt und der Stoffwechsel nicht mehr meßbar ist oder reversibel zum Stillstand kommt. In diesen winterschlafähnlichen Zustand gehen die Zellen der Dauereier über, wobei sie die größte Resistenz bei einem Wassergehalt von 1,3% erreichen. Das Stadium der Exikose ist sogar notwendig, bevor eine Weiterentwicklung eintreten kann (HENTIG, R. 1971).

Die Außenschale und die Eihüllen sind Gegenstand zahlreicher mikroskopischer und biochemischer Untersuchungen gewesen

(LOCHHEAD 1940; BENESCH 1969). Danach kann man folgende unterschiedliche Schichtungen beobachten:

Eihüllen:

1. Eine primäre Eihülle	- Dotterhaut des ungefurchten Eies.
2. Eine sekundäre Eihülle	- Chorion, von Follikelzellen gebildet.
3. Eine tertiäre Eihülle	- von Drüsenzellen der Leitungswege gebildet.
4. Zusätzliche Embryonalhäute	- von der Blastula bis zum Schlupf vorweggenommene Teilhäutungen.

Zwei deutlich verschiedene Eischalen:

1. Eine Außenschale mit einer	äußeren, hyalinen, mittleren, locker spongiösen, inneren, lichtbrechenden Schicht.
2. Eine Innenschale aus	Chitin bestehend.

Ein entsprechendes Bild erhält man auch bei Subitaneiern, nur sind hier die der hyalinen und spongiösen Schicht entsprechenden Lagen wesentlich dünner (LOCHHEAD und LOCHHEAD 1940). Zusammengefaßt ergibt sich für die Dauereier:

- Eine dicke Außenschale schützt den Embryo,
- der Embryo selbst befindet sich in der ersten Gastrulationsphase.
- Das Blastoderm bildet einen Hohlraum (Blastocoel), in den ein Immigrationskegel hineinragt.
- Bestandteile des Immigrationskegels sind große und undifferenzierte Mesoderm- und Keimzellen.

Aus dem Mesoderm werden später das naupliale und das metanaupliale Mesoderm hervorgehen; die ganz entscheidend an der weiteren Entwicklung beteiligt sind. Die Keimzellen unterscheiden sich kaum von den übrigen Mesodermzellen.

Weiterentwicklung

Werden die Dauereier im Schlupfmedium kultiviert, setzt die Weiterentwicklung ein, die in die zweite Gastrulation überleitet.

Die zweite Gastrulation

Mit der zweiten Gastrulation gelangt das Entoderm in den Keim. Erst nach Abschluß dieser Phase immigriert die Ösophagusanlage, die ektodermalen Ursprungs ist. Während der zweiten Gastrulation herrscht folgendes Bild (Abb. 6):
Das Ektoderm beginnt sich aus der Blastoderm-Phase herauszudifferenzieren. Das Entoderm geht langsam in eine Invagination über. Mit fortschreitender Entodermimmigration wird das Mesoderm verdrängt und getrennt. Das Mesoderm selbst kann nach nauplialem und metanauplialem Mesoderm unterschieden werden. Während sich das naupliale Mesoderm weiter entwickelt und simultan segmentiert, liegt das metanaupliale Mesoderm als unpaarige Masse am Hinterende und zeigt nur relativ wenig Teilungen. Diese nehmen erst nach dem Schlüpfen zu, wenn die Proliferationstätigkeit beginnt und successive Somiten abgegeben werden. Die Anordnung des Naupliusmesoderm erfolgt nicht in völlig getrennte Somite wie bei dem metanauplialen Mesoderm, sondern die Somite liegen eng beieinander und entwickeln sich gleichzeitig weiter.

Im Endstadium der Gastrulation ist der Raum für den Embryo sehr klein geworden und das Blastocoel weitgehend eingeengt.

Ektoderm, Entoderm und Mesoderm sind noch voneinander getrennt. Die Enddarmanlage und die Ösophagusanlage befinden sich zum Teil noch außerhalb des Keimes und das Mesoderm hat Somitencharakter angenommen mit den hauptsächlichen Vertretern: Präantennen-, erstes Antennen-, zweites Antennen- und Mandibelmesoderm. Aus ihnen werden im einzelnen hervorgehen:

Präantennenmesoderm:	Muskulatur des Ösophagus, Oberlippenlevatoren, Augenstilmuskeln, Bindegewebszellen des Gehirnneurilemms, Fettspeicherzellen (LOCHHEAD 1941).
1. Antennenmesoderm:	Muskulatur der 1. Antenne, Bindegewebe für Gehirnneurilemm und primäre Blutzellen.
2. Antennenmesoderm:	Muskulatur der 2. Antenne, Bindegewebszellen für Muskulatur und Gehirn, Fettspeicherzellen und das 2. Antennennephridium.
Mandibelmesoderm:	Muskulatur, Fettspeicherzellen, Bindegewebe für Mandibelganglion und Mandibelmuskulatur.

Während der Gastrulation liegen die Somite in Querbögen angeordnet um andere Strukturen herum:

- caudal — das Mandibelmesoderm um das metanaupliale Mesoderm
- lateral — das zweite Antennenmesoderm um die Keimzellen und den Entodermkegel
- rostral — das Präantennenmesoderm um den Entodermkegel
- rostro-lateral — das erste Antennenmesoderm um das Präantennenmesoderm.

Mit der Gastrulation ist der Zustand der ausgebildeten Keimblätter erreicht und die Grundlage für die Weiterentwicklung gelegt, die in sieben Stadien zum schlupfreifen Nauplius führt. Die Naupliusstadien werden im folgenden mit Na 0 bis Na 6 bezeichnet und auch in dieser Reihehnfolge beschrieben.

1b. Die Naupliusstadien

Na 0: Das Ösophagusektoderm beginnt im Anschluß an das Entoderm zu invaginieren.

Na 1: Im Entoderm, das bisher als kompakter Zellhaufen invaginiert ist, bildet sich in diesem Stadium ein Hohlraum, indem sich nun die Entodermzellen epithelartig anordnen. Die Ösophagusanlage erhält Anschluß an dieses Lumen und geht ohne Trennwand in den Mitteldarm über. Die Mesodermzellen der Naupliussegmente werden ohne weitere histologische Differenzierung verlagert. Wo immer Elemente eines Nervensystems auftreten, sind sie ektodermalen Ursprungs. Im Stadium Na 1 setzt das Einwandern von Ganglienzellen ein. Die Anlagen von Mandibelganglien, Trito- und Deuterocerebrum, der drei Ganglienanlagen der Naupliussehmasse und des Naupliusauges, die Zellen des Nebenlappens und die Anlage des Protocerebralbereiches beginnen sich zu formieren.

Na 2: Die Ektodermzellen der Dorsalseite erscheinen vergrößert und zeigen an ihrer Innenseite drei Punkte an denen die prospektiven Ansatzstellen von Antennen- und Mandibelmuskulatur gebildet werden. BENESCH(1969) bezeichnet diese großen ektodermalen Zellen als "Dorsale Atemplatte", WEISZ

(1947) dagegen spricht von einem "Neckorgan", dem er eine besondere Rolle als Ankerpunkt für die naupliale Mandibel- und Antennenmuskulatur zuerkennt. Im Mesoderm treten weitere Verlagerungen der einzelnen Bestandteile auf:

- Das Mandibelmesoderm bleibt lateral vom Darm liegen.
- Das metanaupliale Mesoderm und die Keimzellen werden weiter caudal verlagert.
- Das Mesoderm der zweiten Antennen bleibt lateral vom Darm, während das Mesoderm der ersten Antennen wieder Anschluß an das der zweiten Antennen erhält. Aus den dorsomedialen Zellen des ersten Antennenmesoderms gehen die primären Blutzellen hervor.
- Das Präantennenmesoderm wird von dem rostralen Darmteil nach rostral und ventral des Ösophagus abgedrängt.

Im Bereich des Entoderms haben zahlreiche Teilungen stattgefunden und der Mitteldarm beginnt sich in rostro-caudaler Richtung auszudehnen. Dabei wird die Ansatzstelle der Ösophagusanlage weiter rostral verlagert, während die externe Ösophagusöffnung weiter caudal wandert.

Na 3: Caudal beginnt sich nun der Enddarm zu invaginieren, er ist ektodermalen Ursprungs.
Der Mitteldarm ist soweit ausgedehnt, daß er caudal den invaginierten Enddarm und rostral das Ektoderm in der Gegend der Naupliusaugenanlage berührt. Durch diese Dehnung werden die vordersten präösophagealen Darmabschnitte sichtbar; die Anlage der späteren Darmdivertikel.

Na 4: In den Mesodermzellen der Naupliussegmente sind die ersten Plasmadifferenzierungen zu Muskelfibrillen sichtbar.

Na 5: In diesem Stadium beginnen die ersten Wachstumserscheinungen. Wegen Platzmangels in den Eihüllen treten verstärkt Einstülpungen von Organen auf. Die Extremitäten werden in ihren Konturen sichtbar. Die Ektodermzellen des Telson haben sich gestreckt und eine Ringfalte nach innen gebildet. Gegen Ende des Stadiums setzt die Streckung des Thorakoabdomens ein. Im Mesoderm wird das Hämocoel sichtbar, indem sich das Gewebe auflockert und trennt.

Na 6: Mit diesem Stadium kündigt sich das Ende der Embryonalphase an. Das Thorakoabdomen beginnt sich nun progredient auszudehnen. Dieser Streckung liegt hauptsächlich eine Zellstreckung zu Grunde, weniger eine proliferative Tätigkeit. Der nahe Zeitpunkt des Schlüpfens, nach dem besonders ein gut funktionierendes Bewegungssystem erforderlich wird, verlangt auch eine weitere Ausreifung des Nervensystems. So ist in Na 6 bereits die Querfasermasse des Protocerebrums zu sehen, von dem Ausläufer zu den Nebenlappen, zu der Medulla und zu den Ganglien der Sehmasse ziehen. Der periösophageale Ring des Nervensystems ist geschlossen, die Fasern des ersten und zweiten Antennennerves sind sichtbar. Im nauplialen Mesoderm ist die Differenzierung der Muskulatur abgeschlossen, das metanaupliale Mesoderm und die Keimzellen sind jedoch noch eine einheitliche Masse und liegen im Maxillenbereich. Der Hauptdarm ist rostral in den Ösophagus geöffnet, während ihn caudal eine zweischichtige Zellage verschließt. Erst in Stadium 3 und 4 werden diese Zellagen dünner und verschwinden schließlich (BENESCH 1969).

1c. Der geschlüpfte Nauplius

Stadium 0: Der kurz vor dem Schlupf stehende Nauplius hat mit seinen angelegten Kopfextremitäten nahezu birnenförmige

Gestalt (HEATH 1924; WEISZ 1947). Das Tier liegt bewegungsfähig in der ersten Embryonalhaut (Hatchingmembrane nach WEISZ), Muskulatur und Nervensystem sind funktionstüchtig. In allen Zellen sind noch reichlich Dotterkörner vorhanden, so daß das Tier eine orangene bis rote Farbe besitzt (HEATH 1924). Das Ektoderm ist in den Gehirnanlagen Archicerebrum bis Mandibelganglion stark verdickt und einschichtig. Auch die dorsale Atemplatte und das Proliferationsektoderm sind einschichtig und erhöht, während das Ektoderm an einfachen Hautstellen (z.B. Antennen) relativ dünn und schuppig ist. Das metanaupliale Mesoderm ist noch unsegmentiert. Die Keimzellen liegen im Bereich von Maxillen- und erstem Thorakalsegment. Von den nauplialen Segmenten ist das präantennale Mesoderm noch undifferenziert. Die primären Hämocyten runden sich ab, während das Hämocoel relativ großräumig wird. Das Entoderm erhält die höchsten Dotterkonzentrationen. Der Mitteldarm ist gestreckt und vorn in den Ösophagus geöffnet (Abb. 8).

In diesem Entwicklungsstadium schlüpft das Tier aus der durchsichtigen ersten Embryonalhaut. Dieses Stadium wird auch "hatching" genannt (WEISZ 1947; HEATH 1924), im Gegensatz zur "emergence", dem Hervorbrechen des Embryos aus der dicken und aufgesprungenen Eischale.

Stadium 1: Der Embryo ist geschlüpft und beginnt mit schnell fortschreitendem Wachstum. Im Ektoderm und im Mesoderm sind überall vermehrt Teilungen zu beobachten.

Stadium 2: Mit dem Übergang von Stadium 1 in Stadium 2 nehmen die Teilungen in der Proliferationszone wieder ab. Die Vermehrungsteilungen in Maxillen- und erstem Thorakalsomiten gehen in Differenzierungsteilungen über, während sich die nachfolgenden Somiten in Wachstum, Ablösung oder Bildung befinden.

2. Makroskopische und mikroskopische Anatomie

Bei unseren biologischen Untersuchungen hatten sich zwei Fragestellungen in besonderer Weise herauskristallisiert, die der histologischen Abklärung bedurften:

- Exoven, embryologisches Material, das zwar aus den Dauereiern in diffuser Masse hervorgebrochen war, aber makroskopisch keine Differenzierung zeigte und sich auch nicht weiterentwickelte;
- Geschlüpfte Tiere, die makroskopisch noch einige Zeit beobachtet wurden und dann, wenn sie pathologische Veränderungen aufwiesen, fixiert und geschnitten wurden. Die entsprechenden Tiere befanden sich also im Stadium 0 bis 2, überwiegend aber im Stadium 1.

Die normale Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Eistadien ist weiter oben schon beschrieben. Da man jedoch in unseren Versuchen für die pathologischen Nauplien keine pathologisch-anatomische Entwicklungs- und Weiterentwicklungsgeschichte angeben kann, wird es notwendig, den makroskopischen und mikroskopischen Zustand der Normaltiere des gleichen Alters (1d-Nauplius) soweit zu beschreiben, wie es für die Darstellung der weiteren Untersuchungsergebnisse wichtig ist.

2a. Die Körpergrundgestalt

Der Nauplius hat, wie schon einige Stadien vorher sichtbar, eine birnenförmige Gestalt. Es ist eine Kopf- und eine Stammregion unterscheidbar. Die Kopfregion enthält drei Paare von Adnexen: die ersten Antennen, die zweiten Antennen und die Mandibeln. Auf der ventralen Seite fällt besonders das kräftige Labrum auf, während dorsal die flache Wölbung des Neckorganes charakteristisch ist (Abb. 9).

2b. Die Kopfregion

Die ersten Antennen sind verhältnismäßig klein. Schmale, schuppige Ektodermzellen bedecken das Innere, in dem einige Bindegewebszellen, von Muskelfasern durchzogen, liegen. Gleich neben der Basis der ersten Antennen liegt eine dicht gepackte Ansammlung Ganglienzellen. Ihr Zytoplasma stellt sich homogen, fein granuliert dar, während die Kerne hauptsächlich peripher grob schollig granuliert sind und eine runde bis längsovale Gestalt haben.

Die zweiten Antennen dagegen sind relativ kraftvolle Strukturen. Makroskopisch lassen sie sich in einen Endopoditen und einen Exopoditen unterscheiden. Die Poditen enthalten mehrere Cilien, die durch einen Schaft in den Antennen verankert sind. Das Antennenektoderm ist dünn und schuppig; Zellgrenzen sind gut darstellbar, besonders nach außen hin, wo eine dicke und faserreiche Cuticula das Tier schützt. Das Zytoplasma ist wenig strukturiert, die Kerne bohnenförmig und etwas dichter als andere Kerne. Im Inneren der Antennen bestimmt hauptsächlich die Muskulatur das histologische Bild. Die Muskelfasern sind vielkernige Myome, die ein Sarkolemm und zum Teil viel Sarkoplasma aufweisen, in dem Kerne und Myofibrillen liegen. Die Kerne haben sowohl zentrale, als auch exzentrische Lage. Alle Fibrillen sind quergestreift und mit dem Lichtmikroskop ist nicht zu unterscheiden, ob die Muskeln syncytialer oder plasmodialer Natur sind. Die Muskulatur verläuft längs durch die gesamten Antennen und inseriert peripher an den Sehnenzellen der Epidermis. Als Ursprünge lassen sich zwei Orte unterscheiden: ein vorderer, unter dem Ösophagus gelegener, und ein hinterer, im Zentrum des Neckorganes. Während im vorderen Ankerpunkt die Muskulaturen beider Seiten direkt aneinander stoßen, sind sie posterior an konischen Zellen verankert.
Das Bindegewebe der zweiten Antennen ist locker strukturiert

und es existieren mehrere kleine, wie auch einige größere, runde Zellen mit gut dargestellten Zellgrenzen, verwaschenem Zytoplasma und rundem, schollig granuliertem Kern.

2c. Labrum

Makroskopisch: Das Labrum bedeckt die Oberfläche des Nauplius ventral bis zum ersten thorakalen Segment. In der Hauptsache enthält es neben den mesenchymalen Zellgruppen drei Strukturen von besonderer Bedeutung, den bogenförmig geschwungenen Ösophagus, die Strukturen des Nervensystems und die Naupliussehmasse.
Mikroskopisch: Die Labrumepidermis setzt sich aus einer Einzellage schuppiger Zellen zusammen, der nach außen eine faserreiche Cuticula folgt. Die Strukturen des Nervensystems sind schon in früheren Stadien beschrieben (Stadium Na 0 und Na 6). Es sind dies in der Hauptsache das Protocerebrum mit der Querfasermasse, die Ganglien der Naupliussehmasse und der periösophageale Ring des Nervensystems.

Augen: Das große Naupliusauge (Ocellus) ist schon makroskopisch durch seine rote bis orange-rote Färbung sichtbar. Die Zellen sind groß und becherförmig zusammengelagert. Das Zytoplasma der Retinazellen ist homogen und in PAS deutlich gold-gelb granuliert. Den Ocellus bedeckt anterior eine flache, einschichtige und transparente Zellschicht der Epidermis. Posterior schließt sich eine Lage Neuronen an. Die Grundlagen der zusammengesetzten Augen sind beim "hatching" als dünne ektodermale Proliferationen hinter der Basis der ersten Antennen vorhanden. Diese lateralen Augen werden sich erst in späteren Stadien voll ausbilden (von Stadium 4 an) und in Stadium 14 werden die Augenstiele zu beobachten sein (WEISZ 1947).

Ösophagus: Von einer faserreichen Basalmembran abgegrenzt, lassen die kubischen Zellen ein flach ovales Lumen frei, in dem Schleimsubstanzen nachgewiesen werden konnten. Die Zellen sind durch gut darstellbare Zellgrenzen gegeneinander abgegrenzt. Ihr Zytoplasma ist leicht vakuolig, schaumig strukturiert, die Kerne sind granuliert und haben etwa die Größe der Hauptdarmkerne.

Mesoderm: Von den mesenchymalen Zellgruppen des Labruminneren heben sich die zahlreichen phagozytierenden Speicherzellen ab, sie sind jedoch erst in Stadium 3 voll entwickelt. Ein Muskelstrang ist auf jeder Seite in der Wand des Labrums verankert, die Kontraktion der Muskelzüge richtet das Labrum auf. Auch die viscerale Ösophagusmuskulatur ist mesodermalen Ursprungs, unterscheidet sich aber von der somatischen Muskulatur dadurch, daß sie aus einkernigen Myomen besteht. Beide Muskelarten sind quergestreift.

2d. Neckorgan

Makroskopisch: Bei der äußeren Ansicht der dorsalen Kopfregion des Nauplius erhält man den Eindruck eines gewölbten Raumes; diese "dome-shaped" Konvexität (WEISZ 1947), ist durch ein Organ hervorgerufen, das sich aus nur einer Lage trapezoider Zellen zusammensetzt.
Mikroskopisch: Die großen Zellen (drei- bis vierfaches Ausmaß der Darmzellen) haben ein homogenes Zytoplasma und einen zentral gelegenen, entsprechend großen Kern, der fein granuliert erscheint und zwei bis drei Nukleoli enthält. Direkt unter der Kuppel des Organes finden sich einige keilförmige Zellen: die Ankerzellen für die Muskulatur.

Weitere Entwicklung: Das Neckorgan vergrößert sich noch bis Stadium 7, nimmt aber ab Stadium 8 immer weiter ab und verschwindet vollständig in Stadium 19 (WEISZ 1947).

2e. Die Stammregion

Makroskopisch: Die Stammregion erscheint in diesem Stadium als ein konisch zulaufender Zapfen. Die Hauptstrukturen sind von außen nach innen: Epidermis, Bindegewebe und die Teile des Darmsystems.

Epidermis: Das Ektoderm besteht aus hoch-kubischen Zellen. Die Zellen sind unmittelbar hinter dem Mandibelektoderm niedrig, dann folgt eine Zone Proliferationsektoderm von großer Höhe. Das Zytoplasma der Zellen ist vakuolig gewölkt, die Kerne liegen basal und sind mit peripherer Betonung locker granuliert. Sie sind von der Größe der Darmzellkerne und rund bis leicht länglich. Am caudalen Ende dieser Zellen setzen unmittelbar, durch die charakteristische Falte markiert, niedrige Zellen an, die das Telsonektoderm liefern und bis zum Enddarm reichen.

Enddarm: Die Zellen des trichterförmigen Organs liegen einer chitinisierten Basalmembran auf. Im Lumen konnten fädig-muccoide Substanzen nachgewiesen werden. Das Zytoplasma der Enddarmzellen ist fädig und schaumig strukturiert und es finden sich runde und kleinere Kerne als im Hauptdarm. Ihr Chromatin ist hauptsächlich peripher grob schollig abgelegt und im ganzen lockerer als das der Hauptdarmkerne.

Mesoderm: Das Mesoderm ist nicht so ohne weiteres isoliert nur als das Mesoderm des Stammes zu betrachten. Es liegt viel-

mehr zweischichtig dicht gepackt, mit mehr oder weniger längsgestreckten spindelförmigen Zellen als U-förmiges Blatt zwischen Ekto- und Entoderm (BENESCH 1969). Während der Streckung im Stadium 0 wird das Mesoderm im ganzen lockerer und besonders caudal einschichtig, indem es sich in Proliferations- (somatisches) und Darmmesoderm (viscerales Mesoderm) trennt. Während im Kopfbereich große freie Räume das Hämocoel bilden, liegt das Mesoderm der Stammregion an Darm und Ektoderm aufsteigenden Reihen, perlschnurartig zusammen. Die Zellen des somatischen caudalen Mesoderms haben ein gewölktes, vakuoliges Zytoplasma und zentral gelegene Kerne, von etwa der halben Größe der Hauptdarmkerne. Ihr Chromatin ist locker und peripher betont granuliert. Das viscerale Mesoderm bildet Muskelfibrillen, die in allen Teilen des Darmsystems die Ring - und Längsmuskeln bilden. Es sind langgestreckte, quergestreifte, einkernige Myome. Die Weiterentwicklung des visceralen Mesoderms erfolgt unabhängig von der des somatischen Mesoderms.

Das somatische Mesoderm: Das somatische Mesoderm ist in allen Segmenten zunächst als einheitlicher Somit abgelagert. Es besteht aus einem parallel verlaufenen Zellband, das dorsal weiter rostral reicht, ventral geschlossen ist und eine Breite von zwei bis drei Zellen aufweist (BENESCH 1969). Die Zellen sind ineinander verzahnt und von zum Teil dorso-ventral längsgestreckter Form.

Keimzellen: Die Keimzellen (zwölf bis sechzehn) liegen beim schlüpfenden Nauplius und danach zwischen den Mesodermsomiten des zweiten Maxillen- und ersten Thorakalsegments. Sie werden in der folgenden Entwicklung caudal verlagert und sind dann als länglicher Strang in den Genitalsegmenten anzutreffen. Es sind sehr große Zellen, in diesem Stadium gehören sie zu den größten Zellen des Nauplius. Ihr Zyto-

plasma erscheint homogen und über die gesamte Zelle gleichmäßig granuliert. Die Kerne sind sehr groß und erreichen die zwei- bis dreifache Größe der Darmzellkerne. Das Chromatin stellt sich sehr locker und sowohl peripher als auch im Inneren grob schollig granuliert dar.

Entoderm: Wie das Mesoderm ist auch das Entoderm nicht nur ausschließlich eine Struktur der Stammregion. Der Hauptdarm verläuft in der Längsachse des Nauplius. Sein oberes Ende stößt unmittelbar an das Hämocoel und das mediane Nauplius-auge. In diesem Bereich entwickeln sich zwei Darmdivertikel. Etwas weiter darunter mündet der Ösophagus in den Hauptdarm, während das caudale Darmende in den Enddarm übergeht. Im Stadium 1 beginnt die Differenzierung der Darmzellen. Die Zellen, die embryonal noch dotterreich und groß waren, mit kaum sichtbarem Zytoplasma, werden jetzt, nachdem die apokrine Sekretionstätigkeit in Gang kommt, in zunehmendem Maße plasma- und sekretreicher. Die Zellen selbst sind große Zylinderepithelzellen mit einem zentral gelegenem, runden Kern. Das Kernchromatin ist locker und betont peripher granuliert. Das Zytoplasma stellt sich lichtmikroskopisch schaumig, vakuolig gewölkt, manchmal granuliert dar, wobei das Bild apikal ruhiger und einheitlicher wird. Basal sitzen die Zellen einer außerordentlich dicken, chitinisierten Basalmembran auf, während sie apikal einen feinen Bürstensaum tragen.

Weitere Entwicklung: In zunehmendem Maße wird der Dotter abgebaut und ist in Stadium 3 bis 4 ganz verschwunden. Die Ernährung beginnt in Stadium 4 (BENESCH 1969). Die Darmdivertikel entwickeln sich weiter (WEISZ 1947 spricht von Leberdivertikel und einer Leber). Mit dem weiteren Wachstum des Tieres verlängert sich auch der Darm durch eine diffus auftretende Zellteilung.

3. Entwicklung des Nauplius zum adulten Tier

Die weitere Epigenese von Artemia salina (L.) setzt sich segmentartig fort. WEISZ (1947) definiert die Stadien der Entwicklung nach der Anzahl der vorhandenen Körpersegmente, die, bevor sie etabliert sind, mehrere Wachstumsphasen durchlaufen. Dabei gibt es keine Sprünge, bei denen unterschiedliche Segmente im gleichen Entwicklungszustand auftreten. Die Epigenese der ektodermalen Zellen ist eng verbunden mit der des metanauplialen Mesoderms.

Die Larvenentwicklung ist mit dem neunzehnten Stadium abgeschlossen. Das Tier ist von nun an fortpflanzungsfähig.

E. Ergebnisse der pathologisch-anatomischen und pathologisch-histologischen Untersuchungen an Artemia salina (L.).

Die Ergebnisse der strahlenbiologischen Untersuchungen an Artemia salina (L.) können zusammenfassend beschrieben werden, wenn man die Entwicklung der Larve in Analogie zum Normaltier (siehe Lebenszyklus von Artemia salina (L.)) in vier Gruppen unterteilt:

Gruppe 1: Keine Entwicklung im Ei.
Gruppe 2: Eischale geöffnet, aber keine Organogenese in der Eihülle erkennbar.
Gruppe 3: Eischale geöffnet, vollentwickelte Nauplius-larve in der Eihülle erkennbar, aber kein zer-reißen der Eihülle.
Gruppe 4: Eischale geöffnet, Nauplius schlüpft aus der Eischale, freischwimmende Larve.

Die Häufigkeit des Auftretens dieser Entwicklungsstadien bei 822 von Schweren Kernen, ferner bei etwa 1200 nur von background-Strahlung getroffenen Eiern und etwa 1600 Eiern aus der Bodenkontrolle, gibt die Tabelle Nr. 1 wieder.

Es hat sich als sinnvoll erwiesen, auch die Darstellung histologischer Ergebnisse in der oben beschriebenen Gruppen-einteilung vorzunehmen. Daher soll im folgenden die Strahlenpathologie von Artemia salina (L.) in 4 Abschnitten abgehandelt werden, während dann noch ein 5. Abschnitt die weitere Entwicklung und die Geschlechtsreife von Tieren, die sich aus getroffenen Eiern entwickeln, beschreibt.

	Eier ohne Entwicklung	Eier mit Entwicklung (Eischale geplatzt)		
		Kein Zerreißen der Eihülle		Zerreißen der Eihülle
	Gastrula	Larve ohne Körper-grundgestalt	Larve mit Körper-grundgestalt	Larve frei schwimmend
Gruppe	1	2	3	4
von Schweren Kernen getroffene Eier (822)	43,07 (354)	34,55 (284)	7,66 (63)	14,72 (121)
nicht getroffene, aber geflogene Eier (1200)	20,50 (246)	16,40 (197)	12,80 (153)	50,30 (604)
Bodenkontrolle (1600)	9,20 (147)	1,00 (16)	1,20 (19)	88,60 (1418)

Tabelle Nr. 1: Prozentuale Häufigkeit der Entwicklungsstadien von Artemia salina nach Bestrahlung durch Schwere Kerne im Weltraum im Vergleich zu Flug- und Bodenkontrollen.
In Klammern Absolutwerte.

Die Darstellungen können an exemplarischen Beispielen erfolgen. Dabei sollen interessante Ergebnisse bestimmter Entwicklungsstadien näher untersucht werden.

Gruppe 1: Keine Entwicklung im Ei.

Die starke Schädigung der Gastrula der von Schweren Kernen getroffenen Eier, wird an dem hohen Prozentsatz ohne jegliche Entwicklung im Ei deutlich. Mit einem Anteil von 43,07% hebt sich diese Gruppe signifikant von allen anderen Gruppen ab. Die Zellen der Gastrula zeigten nicht die geringste Tendenz zu Zellverschiebungen und ließen keine Anzeichen proliferativer Tätigkeit erkennen. Die Eier verblieben in der gleichen Gestalt, wie sie in das Kulturmedium eingebracht worden waren und hatten alle embryologischen Potenzen verloren.

Gruppe 2: Eischale geöffnet, aber keine Organentwicklung in der Eihülle erkennbar.

Die extreme Strahlenschädigung durch Schwere Kerne zeigt sich ferner in der anomalen Embryonal-Entwicklung, bei der wohl die Eischalen platzen, aber in den durchsichtigen Eihüllen keine Organentwicklung (34,55%) zu erkennen war.

Hier jedoch sah man in den Schnittserien ein wesentlich anderes Bild. Bei einem Teil der Embryonen (16%) ließ sich histologisch eine Organentwicklung nachweisen (Gruppe 2a); der Rest blieb ohne Organentwicklung (84%) (Gruppe 2b). Die Eischalen und Eihüllen konnten in allen Schnitten dar-

gestellt werden. In Aufbau und Schichtung zeigten sie keine Veränderungen im Vergleich zum Normaltier.

Topographie:

Die Eier weisen einen halbmondförmigen Riß auf, aus dem eine undefinierbare Zellmasse, umgeben von einer durchsichtigen Eihülle, hervorquillt. Sie umfaßt bei den einzelnen Exemplaren unterschiedlich große Teile des Embryos, oftmals bleibt sogar die Hauptmasse in der Eischale zurück.

Gruppe 2a: Exovum mit histologisch differenzierbarer Organentwicklung.

Als Beispiel soll ein Tier mit der Untersuchungsnummer T 170 beschrieben werden an dem sich alle Untersuchungsergebnisse dieser Gruppe (16%) darstellen lassen. Es wurde eine Fe III/ Kernechtrot-Färbung angewandt.

Mikroskopie:

Übersicht: Der Schnitt liegt paramedian (vergleiche auch die Abbildungen des Normaltieres); das Tier hat eine längsovale Form mit der typischen Labrumformation am oberen Pol. Der Embryo selbst wird von einer vielfach aufgefaltenen Hülle umgeben, von der granulierte, fleckig und fädig, grau-blaue, manchmal leicht rötlich färbbare Gewebsanteile bis zur Oberfläche ziehen, dort hat sich ein breiter Saum grober Granula von ähnlicher grau-blauer Färbung angelagert. Innerhalb des Embryos finden sich nur noch wenige Strukturen, die sich bläulich anfärben, es sind dies im wesentlichen granuläre intrazytoplasmatische Strukturen und Zellgrenzen, sowie die innere Oberfläche des Darmes.

Beschreibung der Zellen: Die Zellen des Embryos lassen sich unterscheiden in große Zellen mit großen Kernen, die an der Dorsalseite des Embryos auffallen und Zellen, mit wesentlich kleineren Zellkernen und Zelleibern. Wahrscheinlich bilden die großen Zellen die dorsale Atemplatte. Die Kerne haben ein weitgehend dichtes und unstrukturiertes, intensiv rot angefärbtes Chromatin, das Zytoplasma dagegen ist locker strukturiert und färbt sich blau-grau an. Die Kerne aller anderen Zellen haben verschiedene Größen, ihr Chromatin ist homogen und intensiv rot angefärbt, manchmal peripher granuliert. In Höhe des angeschnittenen Darmlumens zeigen die Kerne die typische schichtförmige Anordnung in Achsenrichtung. Das Zytoplasma der Zellen ist unstrukturiert, leicht bläulich-grau granuliert.

Epikrise:

Nach morphologischen Kriterien konnte das Tier dem Embryonalstadium Na. 5 zugeordnet werden. Das Tier hat eine länglich ovale Gestalt. Das Labrum, die dorsale Atemplatte und das ausgebildete Darmlumen sind deutlich sichtbar. Wegen der paramedianen Schnittebene kommen der Enddarm und der Ösophagus in der Fotografie des histologischen Schnittes nicht zur Darstellung. Ursächliche Beziehungen für das Absterben des Embryos können histologisch nicht beobachtet werden. Die Zellen weisen vom morphologischen Standpunkt keine pathologischen Veränderungen auf.

Gruppe 2b: Exovum mit histologisch nicht differenzierbarer Organentwicklung.

In dieser Gruppe unterschieden sich die histologischen Ergebnisse von denen der Gruppe 2a. Es wurden Zustandsbilder mit fast ausschließlich nekrotischen Zellen und pyknotischen Kernen beobachtet; andere Entwicklungsstadien gleichen Typs dagegen wiesen selten Kernpyknosen auf. Hinsichtlich der

Gesamtheit des untersuchten Materials konnte eine Unterscheidung von etwa 2/3 der Kerne ohne pyknotische Veränderungen und etwa 1/3 der Kerne im pyknotischen Zustand getroffen werden. Immer zeigte sich in der Übersichtsvergrößerung ein unstrukturiertes Zellbild mit langgestreckten Vakuolen. Das Zytoplasma der Zellen war ebenfalls unstrukturiert und ließ sich gut anfärben; ein derartiges histologisches Bild findet man bei dem Tier mit der Untersuchungsnummer T 175.

Topographie:

Der Embryo war teils inner- teils außerhalb der Eischale gelegen, die runde, von vielen Rissen durchzogene Masse ließ am oberen Pol eine hyaline, unstrukturierte Zone erkennen. Die angewandte Färbung war saure Muccopolysaccharid-Färbung mit Fe III und Kernechtrot.

Mikroskopie:

Die zellulären Anteile waren grobscholliger Art, die Zellgrenzen nicht sichtbar. Das Zytoplasma der Zellen färbte sich homogen rot an, dazwischen konnten immer wieder, über das ganze Tier verteilt, fleckig blaue Strukturen beobachtet werden. Die Kerne machten zum größten Teil einen pyknotischen Eindruck, Zellkerne mit normalem Chromatin waren selten, ferner auch die oft bei Artemia salina zu beobachtenden grobscholligen peripheren Granulationen der Kernmembran.

Epikrise:

Aufgrund des histologischen Bildes kann eine geordnete Embryogenese ausgeschlossen werden.

Gruppe 3: Eischale geöffnet, vollentwickelte Nauplius-larve in der Eihülle erkennbar, aber kein Zerreißen der Eihülle.

Nach Tabelle 1 zeigen in dieser Gruppe 7,66% der histologisch normal entwickelten Nauplien dieses Verhalten, wenn sie von Schweren Primären getroffen wurden. Jedoch konnten ähnlich lebensschwache Larven mit gleicher Häufigkeit (12%) bei den ungetroffenen, nur der background-Bestrahlung ausgesetzten, aber im "Stack" geflogenen Eier, beobachtet werden. Die beiden Gruppen wiesen keine statistisch signifikanten Unterschiede auf. Bei den Bodenkontrollen trat dieses Phänomen (0,6%) relativ seltener auf. Es wurden verschiedene Färbungen angewandt.

Histologische Ergebnisse:

In den histologischen Untersuchungen wurden völlig ausdifferenzierte Larven mit zusammengefalteten und an den Körper angelegten Extremitäten in ihren Eihüllen angetroffen. Die Tiere, die in ihren äußeren Proportionen völlig dem Normaltier entsprachen, zeigten auch in ihrer Organentwicklung ein Bild, das dem Normal-Nauplius im Stadium 0 entspricht.
Ektoderm: Die ektodermalen Gewebe: Cutis und Nervengewebe gleichen dem Stadium 0. Ösophagus und Enddarm waren vorhanden und wiesen feine Lumina auf.

Mesoderm: Auch die mesodermalen Gewebe entsprachen dem Normaltier. Hämocyten und Keimzellen waren normal strukturiert und zeigten topographisch keine pathologischen Verlagerungen.

Entoderm: Die Zellen des Mitteldarmes weisen eine hohe Dotterkonzentration auf. Das Lumen zeigt sich, dem Normaltier entsprechend, als gut entfaltet.

Epikrise:

Man kann für diese Larven eine geringere Vitalität annehmen, so daß die Kraft der Extremitäten nicht ausreicht, die Eihäute zu zerreißen. Die histologischen Untersuchungen stützen diese These. Es konnten im Zellgewebe selbst keine strahlengeschädigten Zellen gefunden werden, wie sie von Schweren Primären hervorgerufen, die Funktionsausfälle erklärbar gemacht hätten. Wenn man eine Regeneration der Blastomere in diesem Stadium ausschließt, ist es wahrscheinlich, daß bei einem Durchmesser des Partikalstrahls und seiner delta-Strahlung von einigen tausendstel Mikrometern einschließlich der entstandenen Radikale der biologische Wirkungsquerschnitt relativ gering ist, aber vielleicht bis in den Bereich von einigen Mikrometern reicht. Bei der Vielzahl der Möglichkeiten der Partikelpassage ist die Zahl der geschädigten Blastomere jeweils unterschiedlich groß, zusätzlich muß man hier auch an die zellulären Schäden durch Protonen, alpha-Partikel, ß-,γ- und Röntgenstrahlen denken.
Dies macht auch die relativ enge Korrelation der gefundenen Schädigungen für "backgroundbestrahlte" und für von Schweren Kernen getroffene Eier mit 7,66% und 12,80% deutlich.

Gruppe 4: Eischale geöffnet, Nauplius schlüpft aus der Eischale (frei schwimmende Larve).

Aus nur 14,72 % der getroffenen Eier entwickeln sich frei schwimmende Larven des Stadium 1. Bei den nicht getroffenen, aber im "Stack" geflogenen Eiern beträgt dieser Anteil 50,30%, während die Bodenkontrollen mit 88,60% eine deutlich höhere Rate aufwiesen. Aber auch hier ist die Lebensfähigkeit der schwimmenden Larven gering; hinzu kommt, daß 6,0% der getroffenen Eier Anomalien des Körpers und der Extremitäten

aufweisen. Gleichartige Veränderungen waren sowohl bei den Bodenkontrollen als auch bei den nicht von Schweren Primären getroffenen Flugkontrollen mit 0,5% relativ selten. Sie entfallen hauptsächlich auf Veränderungen im Extremitätenbereich (siehe Gruppe 4a). Die Gruppe 4 umfaßt mehrere histologische Ergebnisse, die alle an gefärbten Schnitten erarbeitet wurden. Es konnten dabei unterschieden werden:

Gruppe 4a: Malformation der Extremitäten,
4b: Deviationen des Abdomens,
4c: Mehrfachbildungen des Kopfes, des Abdomens und der Extremitäten,
4d: Malformationen durch verdrängend wachsende Gewebe.

Gruppe 4a: Malformationen der Extremitäten.

Zur histologischen Abklärung bedurfte es einer Schnittführung, die es erlaubte, die gesamte Extremität möglichst der Länge nach darzustellen. Die umfangreichen Vor- und Hauptversuche bewiesen jedoch immer wieder die komplizierte dreidimensionale Raumstruktur der 2. Antennen. Die gleiche Extremität stellt sich oftmals zunächst längs und später in mehreren schrägen Ebenen angeschnitten dar, so daß Schnittdurchmesser und Zellzahl pro Schnitt starken Schwankungen unterworfen sind. Es werden daher im folgenden die histologischen Ergebnisse gemeinsam mit den makroskopischen und funktionellen Aspekten besprochen.

In dieser Gruppe wurden hauptsächlich Tiere mit abnormen Krümmungen und lokalen Verdickungen bzw. Verdünnungen der Extremitäten eingeordnet. Die Abb. 15 zeigt an Beispielen

einen Überblick über die gefundenen Malformationen. Tiere, bei denen eine Retroflexie der Extremitäten gesehen wurde oder bei denen eine Extremität ausfiel, schwammen in kreisförmigen Bewegungen in den Kulturschalen, andere Individuen, deren zweite Antennen nur partiell geschädigt waren, zeigten torkelnde und schraubenförmige Bewegungsfiguren. Unabhängig von der Art ihrer Schädigung zeigten die einzelnen Tiere immer eine auffällige Bewegungsarmut wie sie bei normalen Nauplien nicht beobachtet werden konnte.

Gruppe 4b: Diviationen des Abdomens.

Deviationen des Abdomens werden auch bei normalen ld-Nauplien beobachtet. Diese Variation bildet sich in späteren Stadien zurück und bleibt nur dann auffällig, wenn sie über das 4d-Stadium hinaus bestehen bleibt, so daß wir dieses Kriterium zur Definition einer Malformation heranziehen. Ein Beispiel zu dieser Gruppe ist T 257.

Histologische Beschreibung

Das Tier zeigt mikroskopisch eine Krümmung seines Mittel- und Hinterleibes zur Seite und nach hinten. Im Präparat sind die vom Körper abgespreizten oberen zweiten Antennen recht gut zu sehen. Ihr Epithel und die Anhangsgebilde entsprechen histologisch dem eines Normaltieres, auch ist keine Veränderung in der funktionellen Anatomie der Muskelfaserbündel zu erkennen. Eine Asymmetrie liegt nicht vor, auffällig bleibt jedoch, daß die Antennen schon makroskopisch eine Abspreizung erkennen ließen. Die Bindegewebzellen der Extremitäten fügen sich in ein normales morphologisches Erscheinungsbild gut ein.

Auch die ersten Antennen sind voll entwickelt und entfaltet.

Ihre Muskulatur ist normal und es bestehen keine Anzeichen für eine gestört abgelaufene Genese.

Kopf

Im Kopfbereich konnten die verschiedenen Elemente des Nervensystems (siehe Na 1) differenziert werden. Das mediane Naupliusauge war makroskopisch deutlich sichtbar, histologisch entsprach es, wie alle Elemente der Naupliussehmasse, den Befunden beim Normaltier. Einer faserreichen Basalmembran saßen die kubischen Ösophaguszellen auf. Der Ösophagus erwies sich im Präparat als verbreitert und groß, zeigte aber keine weiteren Auffälligkeiten. Im Lumen konnte Schleim nachgewiesen werden. Das Hämocoel war ausgeprägt vorhanden, rundzellige Elemente des Blutsystems konnten in den entsprechenden Schnitten nachgewiesen werden.
Zusammenfassend läßt sich sagen, daß im Kopfbereich in keinem Gewebe der drei Keimblätter eine auffällige pathologische Veränderung zu verifizieren war.

Abdomen

Im Bereich des Abdomens prägt die Krümmung sehr stark das Gesamtbild. Wie beim Normaltier fällt der Darm durch seine, im Kontrast zu den umgebenden Geweben, intensivere Färbung auf; ist jedoch gekrümmt. Die Zellen sind hochzylindrisch und haben große, aufgelockerte Kerne. Das Lumen wird auch hier von dem intensiv rot gefärbten Bürstensaum gebildet und enthält selbst roten, fadenförmigen Schleim (muccoide Substanzen, Nahrungsreste und Enzyme). Basal grenzt sich das Darmepithel durch die kräftige, rot angefärbte Basalmembran ab.

Die zirkulär angeordnete Lage der drei Keimblätter im Bereich

des Abdomens ist, wie beim Normaltier, auch hier vorhanden, allerdings zeigen sich einige Veränderungen: Mesoderm und Ektoderm sind auf der einen Seite, der Innenseite der Krümmung in der ursprünglich engen Form via Basalmembran mit dem Darmepithel verbunden. Auf der Gegenseite jedoch, der Außenseite der Krümmung, ergibt sich ein völlig anderes Bild: hier haben sich somatisches Mesoderm im Verband mit Ektoderm in breiter Front von der Basalmembran des Darmepithels abgehoben, während Elemente des visceralen Mesoderms (Darmmuskelzellen) in engem Verband mit dem Darm verblieben sind. Dadurch entsteht ein klaffender Spalt dessen Breite etwa der Höhe zweier Mesodermzellen entspricht. Die Abhebung beginnt in der Höhe des Maxillen- und ersten Thorakalsegments, erstreckt sich über die gesamte Länge des Darmes, greift über das Telsonektoderm auf den Enddarm über, und erst am Ende des Abdomens schließt sich die Lücke wieder.

Ektoderm im Bereich des Abdomens: Die Zellen des Ektoderms im Bereich des Abdomens sind hochkubisch bis zylindrisch. Zytologisch erscheinen beide Seiten gleich, jedoch ist das Ektoderm auf der Innenseite der Krümmung stark gefaltet, während die Außenseite glatt und gespannt ist.

Mesoderm im Bereich des Abdomens: Das Mesoderm stellt sich auf der Außenseite der Krümmung in seiner normalen zweischichtigen Lage dar. Die Kerne des somatischen Mesoderms sind normal gestaltet, mäßig aufgelockert und braun angefärbt. Das viscerale Mesoderm ist in Form intakter Ringmuskelzellen senkrecht angeschnitten.
Auf der Innenseite der Krümmung bildet das somatische Mesoderm keine einschichtige Zellage mehr; es hat sich in kugelförmigen

Arealen angesiedelt, ist kumuliert und zeigt keine organisierte Form. Dieser Umstand fällt besonders in den Faltungsbereichen des Ektoderms auf, wo angehäufte Zellbereiche und dazwischenliegende Hohlräume das Bild bestimmen. Das Zytoplasma zeigt keine Auffälligkeiten, die Kerne sind normal. Ein direkter Hinweis für eine Zellschädigung kann nicht gefunden werden, auch sind keine Zellnekrosen und Kernpyknosen sichtbar.

Epikrise

Es wird über eine Deviation eines Nauplius in der unteren Hälfte des Leibes berichtet, die auch den Darm und stärker noch den Enddarm in Mitleidenschaft zieht. Die Keimblätter sind auf der einen Seite dissoziiert, auf der anderen Seite aufgefaltet oder in Zellanhäufungen kumuliert. Alle anderen Körperteile stellen sich anatomisch und funktionell unauffällig dar.

Gruppe 4c: Mehrfachbildungen des Kopfes, des Abdomens und der Extremitäten.

In dieser Gruppe beobachteten wir zum Teil ganz erhebliche histologisch-pathologische Anomalien. Proportional zum Schweregrad der Mißbildungen nimmt allerdings ihre Häufigkeit ab. Symmetrische Mehrfachbildungen (z.B. zwei Abdomina, zwei Köpfe oder zwei erste Antennenpaare) herrschen hier vor. Es konnten jedoch auch asymmetrische Mehrfachbildungen gesehen werden, wie bei dem Tier mit der Untersuchungsnummer T 460.

T 460:

Makroskopisch: Makroskopisch fiel vor allem die Doppelleibigkeit, die Dreifachbildung der zweiten Antennen und die markante

segmentähnliche Strukturierung des Leibes auf. Nach dem Schlupf hatte das Tier eine auffällige Akinesie gezeigt und nur geringe Bewegungen ausgeführt. Diese Besonderheiten galt es histologisch abzuklären. Gefärbt wurde nach van-Gieson.

Mikroskopisch: Allgemein auffällig war, daß das Tier eine dichte und sehr kompakte Struktur aufwies. Die üblichen, optisch weitgehend freien Bezirke des Hämocoels konnten nicht beobachtet werden. Schwierigkeiten bereitete die Darstellung des Tieres insofern, als nicht nur eine Mehrfachbildung vorlag, sondern auch eine Krümmung in allen drei Raumdimensionen; schon makroskopisch war es schwer, das Tier zum Schneiden zu orientieren. Weiterhin fiel auf, daß sich die Zellkerne sehr schlecht anfärben ließen. Bei den Kontrolltieren konnte eine, in diesem Ausmaß auftretende, eingeschränkte Kernfärbung nicht beobachtet werden.

Extremitäten:

Im Extrimitätenbereich müssen die beiden oberen zweiten Antennen und eine zusätzliche aberative zweite Antenne unterschieden werden.

Die beiden oberen zweiten Antennen:
Die Antennen sind in ihrem histologische Aufbau relativ kompakt gestaltet. Die Muskulatur läßt sich im Falle der rechten Extremität gut bis in alle Ansatzpunkte verfolgen und muß als teilweise funktionsfähig angesehen werden.
Die linke Extremität hingegen ist ödematös aufgequollen und verdickt. Parallele, längliche Muskelfasern sind lediglich an der Basis in Höhe des vorderen Ankerpunktes vorhanden. Im weiteren Verlauf sind parallel laufende Myofillamente nicht mehr zu sehen, dagegen lassen sich nicht genau definier-

bare Strukturen nachweisen, die bis an die Sehnenzellen der Epidermis verfolgt werden können. Eine zuverlässig normale Funktion der Extremitäten ist aus diesem Grund unwahrscheinlich.

Die aberative zweite Antenne:
Ihr Aufbau entspricht dem einer normalen Antenne mit schuppenförmigen Epithelzellen und normalem Bindegewebe. Makroskopisch windet sie sich dorsal um das Tier herum. Muskelfasern konnten differenziert werden, die Funktionstüchtigkeit ist jedoch fraglich. Ihr Ursprung ist der hintere Ankerpunkt der Muskulatur im Neckorgan; ein zweiter, vorderer Ursprungspunkt konnte histologisch nicht gesichert werden. Die beiden anderen Extremitäten besitzen vor dem Ösophagus und im Neckorgan ihre Ursprünge.

Kopf und Kopfbereich

Der Kopf ist mit seinen Anhangsgebilden in ursprünglicher Form erhalten geblieben. Er ist unpaarig angeordnet; in seinem Bereich liegt keine Doppelmißbildung vor. Wir konnten jedoch ein anderes Tier beobachten, bei dem eine exakte Dublikation aller, zum Kopfbereich zählender Gewebe und Gebilde vorhanden war (in der Abb. 14 das Exemplar links unten).

Das Neckorgan (dorsale Atemplatte)

Das Neckorgan ist wie der Kopf unpaarig angelegt. Die aberative dritte Extremität inseriert hier. Das Organ selbst läßt in funktioneller Hinsicht keine pathologischen Veränderungen erkennen. Unmittelbar davor liegt die Fusionsstelle der Intestinuen und dahinter werden die Ankerzellen der Extremitätenmuskulatur sichtbar.

Hauptdarm

Der Hauptdarm des Tieres weist die größten Veränderungen auf. Entsprechend den zwei Leibenden finden sich auch zwei distale Intestinuen, die noch unterhalb der Ösophagusmündung miteinander fusionieren und ein gemeinsames unpaariges proximales Intestinuum bilden. In allen drei Lumina ist fädiger, sich rot anfärbender Schleim sichtbar, Stenosierungen oder Obstruktionen können nicht beobachtet werden. Die Übergänge zwischen den einzelnen Abschnitten sind fließend und kontinuierlich und es finden sich keine Sprünge in der Beschaffenheit des Epithels. Das Zytoplasma der Zellen entspricht dem der Kontrolltiere, die Zellkerne färben sich nur schwach an. Läßt man diesen Aspekt außer Betracht, so findet sich in diesem Stadium kein weiterer morphologischer Hinweis für eine Schädigung aller oder einzelner Darmzellen.

Ösophagus

Der Ösophagus ist unpaarig, er mündet in das proximale Intestinuum. In der Struktur seines Epithels ist er dem Normaltier entsprechend anzusehen. Veränderungen bestehen, bis auf eine etwas weitere Lichtung nicht.

Enddarm

Jedes der zwei distalen Intestinuen geht in einen Enddarm über. Pathologische Stenosierungen oder Obstruktionen werden nicht beobachtet. Die Histologie entspricht dem Befund beim Normaltier, es fällt lediglich auf, daß keine ampullären Aufweitungen vorhanden sind.

Ektoderm

Das Ektoderm weist an beiden Leibern zyklische Einschnürungen

auf. Dabei folgt das gesamte Ektoderm den kryptiformen Einsenkungen in voller Höhe; es handelt sich nicht nur um eine Abflachung des Epithels. Histologisch konnte keine Ursache für diese Einschnürungen gefunden werden.

Epikrise

Mit T 460 wird das Tier beschrieben, bei dem eine Doppelbildung des Abdomens und seiner Organe und eine Mehrfachmißbildung der zweiten Antennen beobachtet wurde. In funktioneller Hinsicht konnte kein Anhalt für eine isolierte Schädigung im abdominellen Bereich gewonnen werden. Eine auffällige Akinesie des Tieres läßt sich hinreichend durch die gefundenen Schädigungen der Extremitätenmuskulatur erklären. Die aberative Extremität ist nicht nur in ihrem feingeweblichen Aufbau beeinträchtigt, sondern inseriert auch an ektopischer Stelle und ist als sicher funktionsuntüchtig anzusehen. Es besteht somit eine funktionell unauffällige Doppelmißbildung neben einer funktionell stark beeinträchtigenden Mehrfachmißbildung.

Gruppe 4d: Malformationen durch verdrängend wachsende Gewebe.

Eine interessante Veränderung konnte an einem Objekt beobachtet werden, bei dem ein definiertes Gewebe raumfordernd gewachsen war und von dem eine cytologische Identifikation angegeben werden kann. Die destruierenden Veränderungen an den umgebenden Geweben konnten durch mehrfach vergleichende histologische Untersuchungen erhellt werden.

T 620:

Makroskopisch

An der äußeren Körpergestalt fiel auf, daß der Nauplius asymmetrisch gestaltet war. Während sich auf der einen Körperseite alle Adnexen vollständig vorhanden und ausgebildet zeigten, waren auf der anderen Seite lediglich zwei nicht näher bestimmbare Gebilde zu sehen, die die Körpergrundlinie deutlich überschritten. In Höhe der normalen zweiten Antennen wurde ein Stumpf sichtbar, der erste Antennen, zweite Antennen, Labrum und Neckorgan in den destruierenden Prozeß mit einbezog. Das zweite Gebilde, in Höhe des ersten Thorakal- und Maxillensegments, war nicht so stark exophytisch gewachsen und schien auch weniger voluminös. Für den funktionellen Gesichtspunkt ist es wichtig, daß keine regelmäßigen Körperbewegungen und Aktionen des Extremitäten beobachtet werden konnten.

Mikroskopisch

Extremitäten: Das Schnittbild zeigt eine intakte linke Extremität, während die rechte auch histologisch fehlt. Das Epithel weist die typische schuppige Struktur auf. Die Zellkerne sind euchromatisch. Dazwischen kommen immer wieder Zellen mit signifikant vergrößertem Kern vor. Im Innern der Extremität sind Bindegewebszellen nachweisbar. An der Basis beobachteten wir einige große Zellen, etwa in der Größe einer kleinen Neckorganzelle, jedoch mit grob granuliertem Kern. Lichtmikroskopisch gewinnt man zunächst den Eindruck einer gut funktionierenden Muskulatur, in weiteren Schnitten nehmen allerdings Infiltrationen mit Zellen des großkernigen Typs erheblich zu, so daß eine regelrechte und funktionstüchtige Aktion des Organs ausgeschlossen werden muß. Auch kann ein Ursprungspunkt für die Muskulatur weder vor dem Ösophagus

noch vor dem Neckorgan differenziert werden, weil gerade diese Regionen von der pathologischen Veränderung stark betroffen sind.

Kopf: Im Kopfbereich ist als einzige anatomische Einheit die linke erste Antenne erhalten geblieben, sie weist auch als einziger Teil den ursprünglichen, normalen Zellbesatz auf.
Der größte Teil des Kopfbereiches wird allerdings von der oben bereits erwähnten dysplastischen Veränderung eingenommen. Sie soll weiter unten genau beschrieben werden.

Hauptdarm

In der Übersichtsvergrößerung zeigt sich eine Verdrängung der oberen Hauptdarmteile zur erhaltenen Extremität. Der raumfordernde Prozeß hat sich zwischen Ektoderm und somatisches Mesoderm auf der einen Seite und Darm mit visceralem Mesoderm auf der anderen Seite gedrängt. Dadurch ist der ursprünglich straffe Aufbau dieses Bereiches zerstört. Ektoderm und somatisches Mesoderm haften noch eng aneinander, während der Darm mit seinen Muskelzellen stark abgedrängt und im Aufbau verändert ist. Die Zellen des Darmes haben sich in der HE-Färbung rot angefärbt und heben sich von den benachbarten Geweben ab. Der gesamte Darm ist von einer Basalmembran umgeben, die Zellgrenzen sind exakt dargestellt, werden jedoch zum oberen Pol hin unübersichtlicher. Der Hauptdarm geht normal in den Enddarm über.

Innerhalb des Intestinuums zeichnet sich eine Aufspaltung der Befunde in zwei topographischen Regionen ab. Im oberen Hauptdarm ist das Lumen obliteriert, während die Zellen noch in ihrer normalen Höhe erhalten sind. Ihr Zytoplasma färbt

sich intensiv rot an und die Kerne sind dicht, klein und pyknotisch. Ein feiner Spalt im Gewebe markiert den Übergang zum unteren Hauptdarm. Hier entfaltet sich das Lumen wieder, die Zellen sind in ihrer ursprünglichen Form erhalten geblieben mit normal angefärbtem Zytoplasma und aufgelockert granuliertem Kern. Ein pathologischer Befund ist in diesem Bereich nicht zu erheben.

Ösophagus

In keinem der Serienschnitte kann ein Ösophagus oder ein Ösophagusäquivalent differenziert werden.

Enddarm

Der Enddarm ist relativ kurz gestaltet und trichterförmig, es konnte jedoch kein pathologisches Kriterium erhoben werden. Der raumfordernde Prozeß ist nicht bis in diese Region vorgedrungen und es hat keine Verdrängung oder Verlagerung des Gewebes stattgefunden.

Mesoderm

Das Mesoderm der unteren Körperhälfte ist in seiner cytologischen Struktur unbeeinflußt geblieben, es haben keine Zellzerstörungen stattgefunden. Die topographischen Besonderheiten sind an anderer Stelle besprochen.

Ektoderm

Auch das Ektoderm zeigt keine pathologischen Veränderungen seiner Zellen.

Auge

Histologisch konnten keine Augenzellen nachgewiesen werden.

Neckorgan

Die Zellkerne zeigen die typische Struktur des Chromatins in seiner netzartigen, fein granulierten, über den gesamten Kern gleichmäßig verteilten Anordnung. Sie entsprechen, wie auch das Zytoplasma,dem Normalbefund.

Die dysplastischen Gewebe

Die als eindeutig pathologisch angesehenen Veränderungen können in zwei Hauptgruppen eingeteilt werden: einen mehr im Kopf-Extremitäten-Bereich lokalisierten Teil und einen in Höhe des ersten Thorakal-Maxillen-Segments gelegenen Teil. Die makroskopische Einteilung konnte somit auch histologisch verifiziert werden. Es bleibt fraglich, ob beide Teile Ausdruck des gleichen Prozesses sind. Sie unterscheiden sich im cytologischen Aufbau und es bestehen auch anatomisch keine Verbindungen, ätiologisch hingegen finden sich Zusammenhänge.

Im folgenden wird des besseren Verständnisses wegen nur von einem superioren und einem inferioren Prozeß gesprochen.

Der superiore Prozeß

Die Kerne des superioren Prozesses erscheinen zum überwiegenden Teil pyknotisch. Die Zellen liegen dicht nebeneinander und selten ist eine Zelle mit größerem und aufgelockertem Kern zu sehen. Das Zytoplasma ist rötlich angefärbt, klare zytoplasmatische Strukturen lassen sich nicht erkennen.

Cytologisch konnten die Zellen Ganglien- bzw. Nervenzellen und Mesodermzellen zugeordnet werden. Da im gesamten Bereich dieser Veränderung keinerlei normale anatomische Strukturen

beschrieben werden konnten, kann man hier von einer strukturlosen, diffus verteilten Zellmasse sprechen.

Der inferiore Prozeß

Der inferiore Prozeß stellt sich anatomisch wesentlich komplizierter dar. Histologisch wird er von nur einer Zellart aufgebaut, ist also kein Mischgewebe. Es sind sehr große Zellen, die in ihrer Größe mit Neckorgan- oder Keimzellen verglichen werden können.Ihr Zytoplasma ist homogen über die gesamte Zelle verteilt und leicht granuliert. Die Kerne sind locker strukturiert, das Chromatin stellt sich hauptsächlich peripher an der Kernmembran schollig abgelagert dar, ist aber auch über dem gesamten Kerngebiet verteilt anzutreffen.
Aus histologischen Vergleichen, der topographischen Lage und der cytologischen Ähnlichkeit konnte der Schluß gezogen werden, daß es sich um Keimzellen handelt, die beim Normaltier in diesem Stadium in Höhe des ersten Thorakal-Maxillensegments liegen. Eine Ähnlichkeit mit Zellen des Neckorgans kann ausgeschlossen werden.

Es lassen sich in Stufen angeordnet drei verschiedene Schnitte beschreiben, mit deren Hilfe sich der inferiore Prozeß in seiner gesamten Problematik und räumlichen Struktur darstellen läßt. Die Zellen sind in allen drei Schnitten histologisch gleich, unterschiedlich jedoch ist die anatomische Anordnung und Ausbreitung des Prozesses.

Schnitt 1

Die pathologische Neubildung reicht tief ins Gewebe hinein, ihre Ausdehnung ist keilförmiger als in den anderen Schnitten. Der Darm wird in den oberen Abschnitten abgedrängt und nach unten gestaucht, dabei weist er die schon beschriebenen Veränderungen auf.

Schnitt 2

Die Raumforderung zieht sich mit dem verdrängenden Zapfen langsam aus dem gesunden Gewebe zurück, wobei der Hauptteil jetzt mehr über den Darm zu liegen kommt. Im Grenzbereich sind auf der Extremitätenseite einige Zellen mit pyknotischem Kern zu beobachten, die atrophierenden Vorgängen zugeordnet werden können. An der Basis der erhaltenen zweiten Antenne, aber auch im weiteren Verlauf des Organes, lassen sich die schon beschriebenen großen Zellen beobachten, deren Ähnlichkeit mit den Zellen des verdrängenden pathologischen Gewebes auffällt. Darüber hinaus finden sich einige kleine hämatologische Zellen.

Schnitt 3

Im Präparat sind nur noch die oberflächlichen Zellareale des posterioren Darmepithels angeschnitten. Der raumfordernde Prozeß greift nunmehr ganz auf die kontralaterale Seite über und kommt dabei auch bandförmig über den Darm zu liegen. Infiltrationen mit Zellen des großkernigen Typs lassen sich vermehrt in der Extremität und im Ekto- sowie Mesoderm unterhalb des verdrängenden Gewebes beobachten, so daß eine sichere Differenzierung ektodermaler und mesodermaler Elemente erst wieder in entfernteren Bereichen möglich wird.

Epikrise

Durch die Schnitte eins bis drei konnte abschließend die dreidimensionale Struktur des raumfordernden inferioren Prozesses geklärt werden. Er verdrängt mit zwei Gewebszapfen rechts wesentlich stärker als links den Hauptdarm, während eine bogenförmig gespannte Gewebsbrücke posterior um den Darm herumgreift und diesen nach ventral verlagert.

Infiltrierende Zellen haben die erhaltene zweite Antenne durchsetzt und sich, wie in Schnitt 3 gezeigt, überall im Bereich des rechten Ekto- und Mesoderm festgesetzt. Dadurch wurde bestätigt, daß der Prozeß nicht nur lokal verdrängend gewachsen war, sondern auch infiltierende Zellen in die angrenzenden Gewebe und Organe eingedrungen sind.

Die Zellen des superioren Prozesses dagegen sind nicht in andere Gewebe eingedrungen. Allerdings haben sie lokal erhebliche Veränderungen hervorgerufen und die rechte erste und zweite Antenne, den Ösophagus, die Sehmasse und das Labrum sowie alle normalen anatomischen Strukturen des Nervensystems in den destruierenden Prozeß mit einbezogen. Die feingeweblichen Untersuchungen konnten dabei die vorherrschende Zellart als Nerven- bzw. Ganglienzellen und Mesodermzellen identifizieren.

5. Die weitere Entwicklung von Artemia salina (L.) aus von Schweren Primären getroffenen Eiern.

Betrachtet man die weitere Entwicklung der Tiere, die sich aus getroffenen Eiern entwickeln und die ersten Tage überleben, so zeigen sich auch bei diesen starke Einflüsse der Strahlenschädigung. Abb. 24 zeigt das Längenwachstum der Larven bis zum Alter von 30 Tagen. Während die Larven, die aus den Eiern der Bodenkontrollen stammen, bis etwa zum dreißigsten Tag ständig an Größe zunehmen, bleiben die Larven, deren Eier von Schweren Kernen getroffen wurden, im Wachstum zurück (6 mm) und erreichen auch 25 Tage nach dem Schlupf nicht die normale Größe von 12 mm. Auch die aus ungetroffenen aber geflogenen Eiern (background bestrahlten Eiern) geschlüpften Larven entwickeln sich zunächst etwas langsamer, wachsen dann aber zur normalen Größe heran.

Die ausgewachsenen Tiere zeigen eine verminderte Fortpflanzungsfähigkeit. Nimmt man als Kriterium für die Geschlechtsreife die Paarbildung, so findet diese, wie in Abb. 25 dargestellt, für Artemien, die sich aus getroffenen Eiern entwickeln, deutlich später statt als normal.
Eine geringere Fruchtbarkeit läßt sich zudem nachweisen, wenn man die Zeit der Eiablage, die Anzahl der Gelege und die Zahl der Nachkommen betrachtet.

F. Besprechung der Ergebnisse

Um die biologischen Wirkungen der Schweren Kerne (HZE-Teilchen) in der kosmischen Strahlung und ihre Bedeutung für Langzeitaufenthalte im Weltraum zu erforschen, wurde das biophysikalische Experiment BIOSTACK durchgeführt.

Das zylinderförmige Paket flog im Kommandoteil von Apollo 16, 17 und Apollo-Sojus längere Zeit im Weltraum. Zwischen Kernspur-Emulsionen, Plastik-Detektoren und Kristallen lagen in Plastikfolien biologische Objekte: Bakteriensporen (Bacillus subt.), Gänsekressesamen (Arabidopsis thaliana) und Krebseier (Artemia salina). In Verbindung mit den physikalischen Detektorschichten war es möglich, die von Schweren Kernen getroffenen biologischen Objekte zu bestimmen und anschließend isoliert zu kultivieren.
Dem Hauptversuch zur Klärung der pathologischen Auswirkungen Schwerer Kerne der Weltraumstrahlung auf Artemia salina-Eier gingen umfangreiche Vorversuche voraus, die sich einmal auf die Isolierung der von Schweren Kernen getroffenen Eier, deren Schlupf und ferner auf die histologischen Untersuchungen einzelner, normaler bzw. bestrahlter, anormaler Nauplien erstreckten.

In den strahlenbiologischen Experimenten ließen sich dann die erprobten Techniken auf die im Weltraum von Schweren Kernen getroffenen Artemia-Eier anwenden. Vergleichend hierzu wurden die Eier, die wohl mitgeflogen, aber nicht von Schweren Kernen getroffen waren (Flugkontrolle) und die Eier der Bodenkontrolle in die Versuche miteinbezogen.

Um exakte Vergleichsmöglichkeiten der entsprechenden Entwicklungsstadien zu bekommen, war es notwendig, die Kulturtechnik (Isolierung und Schlupf) für die drei oben genannten Ei-Kolektive zu koordinieren. Im speziellen Salzwasser

(3% Mikrozell) und einer Sauerstoffspannung (3 ml O_2/l) bei etwa 25°C gelang eine Schlupfausbeute von etwa 90% bei normalen, unbestrahlten Eiern. Zur weiteren Entwicklung braucht die Nauplius-Larve eine etwa dreifach höhere Salzkonzentration und spezielle Algennahrung. Auch im Salzsee von Utha, dem natürlichen Biotop, sind gleichartige Lebensbedingungen anzutreffen, wobei ein Teil der Algennahrung aus Dunaliella viridis besteht. Diese Algen ließen sich im Laboratorium kultivieren und dienten den Artemien als Futter. Unter diesen Kulturverhältnissen gelang die weitere Entwicklung der Nauplien bis zum adulten Krebs. Die erwachsenen Artemien lebten etwa 6 Monate. Ausfälle waren relativ selten. Somit war es möglich, nicht nur den Schlupf aus dem Ei, sondern auch das Wachstum, das Paarungsverhalten, die Eiablage, das Auftreten von Anomalien u.a. in den drei Kollektiven (Versuchstiere, Flug-, Bodenkontrollen) vergleichend zu untersuchen.
Betrachtet man die durch Schwere Kerne verursachten Strahlenschäden, so fallen im Gastrulastadium die relativ vielen, sich nicht entwickelnden Eier auf. Wie aus der Tabelle hervorgeht, beträgt der Prozentsatz bei

den von Schweren Kernen getroffenen Eier	= 43,07%
den Flugkontrollen (Protonenstrahlung)	= 20,50%
den Bodenkontrollen	= 9,20%

Die starke Schädigung der Blastula der von Schweren Kernen getroffenen Eier ohne nahezu jegliche Entwicklung wird durch dieses Ergebnis gegenüber den Flugkontrollen und den Bodenkontrollen deutlich. Bei etwa 45 % der getroffenen Eier setzte eine Entwicklung ein, die aber bei etwa 34 % zu anomalem Zellwachstum führte ohne daß eine Körpergrundgestalt erkennbar war. 7% der Larven mit Körpergrundgestalt vermochten sich nicht aus eigener Kraft aus der Eihülle zu befreien. Nur aus etwa 14% der getroffenen Eier entwickelten

sich freischwimmende Nauplien. Die Vitalität dieser Larven war jedoch relativ gering.

Wenn man die strahlengeschädigten Eier ohne Entwicklung untersucht, dann sieht man, nach Aufhellung der Eischale durch Antiformin, die unentwickelte Gastrula. Schon EUGSTER, J. (1955) berichtete nach Experimenten mit Artemia salina, die der Weltraumstrahlung ausgesetzt wurden, von einer spätembryonalen Phasenempflindlichkeit. Auch elektronenoptische Untersuchungen (PLANEL, H., 1973) konnten eine zelluläre Schädigung der Blastomeren nachweisen, wenn Schwere Kerne ($^{16}_{8}$O, 2,1 GeV/Nukleon) das Artemia-Ei getroffen hatten. In einigen Fällen nahmen diese geschädigten Zellen an der Entwicklung zur Gastrula noch teil, dann aber ließ sich keine Entwicklungsdynamik mehr beobachten.

Wenn ein Schwerer Kern das Artemia-Ei durchquert, so können bei der nahezu kugelartigen Form der Blastula (4142 ± 52 Blastomeren) einmal einige wenige Zellen (Passage von Blastoderm und Blastocoel) alteriert werden. Es ist aber auch denkbar, daß der Schwere Kern eine hintereinanderliegende Reihe von Blastomeren (Blastoderm) passiert. Da die Eiform nach der Wasseraufnahme einheitlich rund ist, kann nicht gesagt werden, welche Eiblastomeren durch die Passage des Schweren Kernes der Weltraumstrahlung getroffen und geschädigt werden.

Außerdem sehen wir, wie aus den Ausführungen über die normale Entwicklung hervorgeht, eine unterschiedliche Differenzierungsdynamik bestimmter Blastodermbereiche. Über die Strahlensensibilität dieser Zellen liegen bisher keine strahlenbiologischen Daten vor. Zum Teil kann das Fehlen solcher Angaben auf die relativ geringe Größe des Eies (210 µm) zurückgeführt werden.
Das Wachstum der Nauplien, die aus den von Schweren Kernen

geschädigten Eier schlüpften, war in der sich anschließenden Entwicklungszeit von 30 Tagen verzögert, die Paarung war relativ spät und auch die Zahl der Nachkommen (F_1) war gegenüber den Flug- und Bodenkontrollen erheblich geringer.

Auch bei den Flugkontrollen stellten wir eine relativ hohe Zahl (20,50%) von Eiern fest, die ohne Entwicklung blieben. Anfängliche Vermutungen, andere Raumfaktoren (Vibration, Beschleunigung u.a.) könnten hierfür verantwortlich sein, erwiesen sich als nicht richtig. Denn Versuche mit Artemia-Eiern, die diesen Raumflugfaktoren ausgesetzt wurden, zeigten eine normale Entwicklungsdynamik. Sucht man nach anderen Schädigungsursachen, so kann man eine andere Strahlungskomponente nicht vernachlässigen, die Zertrümmerungssterne. Sie entstehen hauptsächlich durch Wechselwirkung von Protonen bzw. Neutronen der kosmischen Strahlung mit Materie. In den Strahlendetektoren von Biostack I konnten 15000 Sterne/cm^3 gezählt werden. Da es sich hier nicht um gewebeäquivalentes Material handelt, läßt sich nicht exakt auf die Häufigkeit der Sterne im Gewebe schließen. Die mittlere Energieabgabe dieser Sterne bei den Apolloflügen betrug 6,3 x 10^5 MeV/cm^3, was einer relativ geringen Dosis von 2,6 mrad entspricht. Betrachtet man aber die lokale Dosis mit der gesamten Energieabgabe in einem bestimmten Volumen (Kugel Ø 10 µm), so sind 10^3-fach höhere Werte errechnet worden (BÜCKER, H. 1976). Es können also, wie bei den HZE-Teilchen, lokal sehr hohe Energien freigesetzt werden, was möglicherweise im Artemia-Ei die beobachtete Entwicklungsstörung bedingen könnte. Aus den strahlenbiologisch primären Reaktionen, die am Anfang einer Kausalkette stehen, lassen sich die Veränderungen ableiten, die sich an lebenswichtigen Strukturen z.B. der DNS zeigen. Die sich hieraus ergebenden vielfältigen Möglichkeiten, wie sich Funktion und Struktur von Molekülen verändern können, bedingen die unterschiedliche Ausprägung des pathologischen Bildes. Der strahlenbiologische Eingriff erfolgt zudem am lebenden Objekt, obwohl die Blastula mehr einem Zystenstadium ähnelt. Die Antwort auf zellulärer Basis besteht

dann in einem anomalen Entwicklungsprozeß bis hin zur Körpergrundgestalt und bei relativ vielen Tieren bis zur Differenzierung der Organe des adulten Tieres. Der individuelle Schädigungsgrad der Blastodermzellen bestimmt den Formtypus der Anomalie. Der Übergang vom Regulationsei zum Mosaikei, mit zellulärer Determination, erfolgt im Artemia-Ei zum Zeitpunkt der Gastrula I. Aber dieser entwicklungsphysiologische Wechsel kann beim Artemia-Ei nicht so eng gefaßt werden, da die Gesamtentwicklung bis zur Nauplius-larve nur 1-2 Tage dauert und die einzelnen Entwicklungsstufen unmittelbar ineinander übergehen. Nur so ist es verständlich, daß relativ viele Arten anomaler Zelldifferenzierungen bis zur Entwicklung des Nauplius nach der Passage eines Schweren Kernes durch das Ei gesehen werden konnten. Die Anomalien erstreckten sich besonders auf den strukturellen Aufbau der Extremitäten, des Kopfes und Abdomens. Als interessante Einzelbeobachtung sei noch ein raumgreifender Prozeß im Bereich des Thorakoabdomens genannt. Doppelbildungen (Chimäre) des Abdomens oder von anderen Körperteilen zeigten sich bei einigen Nauplien. Aber auch hier liegt kein spezieller Strahlenschaden vor, denn man ist in der Lage, z.B. durch Zerschneiden des Keimstreifens im Ei der Gewächshausschrecke Trachycines, Doppelbildungen von einzelnen Körperteilen hervorzurufen.

Die bisherigen strahlenbiologischen Experimente mit Schweren Teilchen haben gezeigt, daß sich unsere Kenntnis über die Dosemetrie von Korpuskularstrahlung (α, ß-Strahlung) nicht ohne weiteres auf die Schweren Kerne der kosmischen Strahlung mit sehr hohen Ionisierungsdichten übertragen lassen. Die Kenntnis über die Wechselwirkungen des extrem energiereichen Anteils mit den Atomen der Materie sind auch physikalisch gesehen nicht hinreichend bekannt, so daß man die biologischen Konsequenzen nicht abzuschätzen vermag. Hier tritt also ein neuartiges Problem auf, ein erhöhter Energiebetrag wird entlang der Spur in einem engen Kanal auf das Gewebe abgegeben.

Zum Beispiel kann ein einzelner Eisenkern (Z=26), der etwa 1 cm tief in das Gewebe eindringt und dort stecken bleibt, die gleiche Energie abgeben, wie etwa 220 ebenfalls 1 cm tief eindringende Protonen (HEINRICH, W. 1976).
Die geometrische Spurbreite eines Schweren Kernes variiert je nach Ladung zwischen 0,8 µm und 3,0 µm im Querschnitt (HENIG, G. et. al. 1973). Jedoch nehmen französische und sowjetische Biophysiker an, daß die Deltastrahlen von der Spur des Kernes mehr als einen Zentimeter in das Gewebe eindringen können (PFISTER, A. et. al. 1976).

Der lineare Energietransfer (LET) der üblicherweise in der Strahlenbiologie als Maß für die von einem Teilchen an das Gewebe abgegebene Energie benutzt wird, reicht aber allein nicht aus, um die Strahlenschäden einzelner Schwerer Kerne zu beschreiben. Es ist notwendig zu wissen, wie sich die Energie in dem Volumen um die Bahn des Kernes verteilt. Denn durch Ionisationsvorgänge werden freie Elektronen mit unterschiedlicher Energie erzeugt, die ihrerseits wieder durch Ionisation und Anregung Energie auf der Bahn des Teilchens abgeben (KATZ, R. et al. 1972,1976; FAIN, J. et al. 1974). Nach den Ergebnissen dieser Autoren lassen sich die Vorgänge folgendermaßen beschreiben. Die Energie, die den Elektronen im ersten Ionisationsvorgang übertragen wird, ist der Geschwindigkeit des Schweren Kernes proportional. Ferner ist die pro Wegstrecke abgegebene Energie dem Quadrat der Geschwindigkeit umgekehrt proportional. Daraus folgt, daß ein Kern hoher Energie mit einem relativ kleinerem LET als ein langsamer Kern, dennoch in einem größeren Abstand vom Zentrum seiner Spur mehr Energie an das Gewebe abgibt als der langsame. Analoge strahlenbiologische Experimente über die Wechselwirkung Schwerer Kerne wurden erst durch den Bau von Schwereionenbeschleunigern möglich. Solche Versuche können z.B. am Bevatron in Berkely durchgeführt werden.

Abgesehen von ihrer kernphysikalischen Bedeutung ist die Kenntnis über die Wechselwirkung Schwerer Kerne für uns bereits von besonderem Interesse, so z.B. für Probleme des Strahlenschutzes bei Raumflügen oder Flügen im Überschallbereich (16-22 km) oder für astrophysikalische Probleme.

G. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit werden die Strahlenschäden untersucht, die sich bei der Entwicklung von Artemia salina (L.) zeigen, wenn das Ei dieses Salzkrebses von einem Schweren Kern der Weltraumstrahlung getroffen wird. Es handelt sich hier um Atomkerne, die schwerer als Helium sind und relativ hohe Energie besitzen. Die Untersuchungen fügen sich in die Serie der Biostack-Experimente ein, bei denen besonders intensiv erforschte Standardobjekte, eingebettet in wasserlösliches Plastikmaterial (PVA), Weltraumbedingungen ausgesetzt werden. Artemia salina (L.) erwies sich wegen seiner außerordentlichen Resistenz gegenüber chemischen und physikalischen Schädigungsfaktoren als besonders geeignet.

Im ersten Teil der Arbeit wird die (makroskopische und mikroskopische) Anatomie sowie die Embryologie des Normaltieres experimentel untersucht. Es wird dabei die Entwicklung über die einzelnen Stadien, besonders der ersten und zweiten Gastrula und den Naupliusstadien bis zum geschlüpften 1 d - Nauplius verfolgt. Das Stadium der beginnenden Gastrulation erfährt dabei eine besondere Beachtung, da in diesem Zustand die Artemia-Eier den Weltraumbedingungen ausgesetzt werden. Aus der Beschreibung der makro- und mikroskopischen Anatomie des 1 d - Nauplius ergeben sich zuverlässige Vergleichsmöglichkeiten zu den strahlengeschädigten Nauplien, wobei zahlreiche Abbildungen zur Erklärung beitragen. Die pathologisch-anatomischen Untersuchungen wurden analog zu der Entwicklung des Normaltieres in Gruppen (1-4) aufgeteilt.

In der Gruppe 1 konnte keine Weiterentwicklung innerhalb des Eies beobachtet werden. Strahlenschädigungen der Blastomeren durch Schwere Kerne sind in der Literatur mitgeteilt worden.

Die Gruppe 2 umfaßt Untersuchungen an Eistadien, bei denen die Schale geöffnet, makroskopisch aber keine Organentwicklung erkennbar war. Histologisch ließen sich jedoch in 16% der Fälle Organstrukturen und in den übrigen lediglich ein ungeordnetes Zellkonglomerat nachweisen.

In der Gruppe 3 werden Nauplien beschrieben, die nach dem Schlupf (emergence) nicht die Kraft besitzen, die Eihüllen zu zerreißen. Diese Tatsache deutet auf eine geringere Vitalität hin. In histologischen Untersuchungen ließen sich kein pathologischen Veränderungen an den Organen beobachten.

Die Gruppe 4 zeigt die interessantesten pathologischen Veränderungen. In der Gruppe 4a werden Malformationen der Extremitäten zusammengestellt. Die Gruppe 4b umfaßt die als pathologisch erkannten Deviationen des Abdomens. Als Ursache kann hier eine Dissoziation der Keimblätter mit anomaler Zellanhäufung im abdominellen Bereich angesehen werden.
In die Gruppe 4c ordneten wir die Mehrfachmißbildungen des Kopfes, des Abdomens und der Extremitäten ein. Histologisch betrachtet handelt es sich um identische Mehrfachmißbildungen der oben genannten Körperteile mit den dazugehörigen Geweben und Organen. Diesen Tieren war es praktisch nicht möglich, sich in der Kulturflüssigkeit fortzubewegen. Als Grund hierfür fand sich eine Schädigung spezieller Extremitätenmuskelfasern zusammen mit den beschriebenen Malformationen.
In der letzten Gruppe 4d wird ein Tier näher untersucht, bei dem Gewebe im Kopf- und Abdominalbereich raumfordernd gewachsen war. Die mikroskopische Analyse zeigte im Kopfbereich eine vermehrte Anzahl von Ganglien- und Mesodermzellen und im Abdominalbereich eine anomale Keimzellenvermehrung.
Durch die asymmetrische Ausbildung nur einer zweiten Antenne schwamm das Tier im Kreis.

Die Gesamtzahl aller beobachteten Anomalien der Nauplien, die aus Eiern schlüpften, die von Schweren Kernen getroffen waren, betrug 50 = 6,2%. Gleichartige Veränderungen zeigten sich bei den Boden- und Flugkontrollen relativ selten, die Gesamtzahl war 8 = 0,5%.

H. ABBILDUNGEN

Abb. 1:
Artemia salina in PVA (Polyvinylalkohol) und Detektorschichten, wie sie im BIOSTACK angewandt werden.

Abb. 2:
Spur eines Schweren Kernes in der Zellulosenitratschicht (CN), darunter Artemia-salina-Eier in der PVA-Schicht.

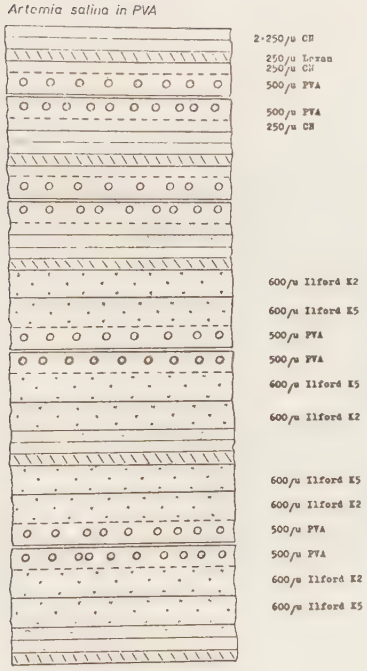
Artemia salina in PVA
2·250/u CH
250/u Lexan
250/u CH
500/u PVA
500/u PVA
250/u CH
600/u Ilford K2
600/u Ilford K5
500/u PVA
500/u PVA
600/u Ilford K5
600/u Ilford K2
600/u Ilford K5
600/u Ilford K2
500/u PVA
500/u PVA
600/u Ilford K2
600/u Ilford K5

Abb. 1

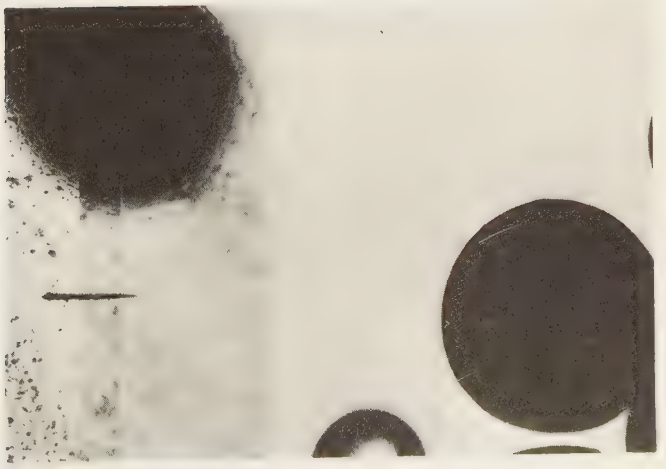

Abb. 2

Abb. 3:
Zahlenraster mit Eiern von Artemia salina und darüberliegender Bahnspur eines Schweren Kernes.

Abb. 3

Abb. 4:
Kreislauf von Artemia salina; ausgehend vom Eistadium (1) bis zum adulten Tier (8) innerhalb von vier Wochen.

Abb. 5:
Frühes (links) und spätes (rechts) Stadium der ersten Gastrulation. Ek = Ektoderm; M = Mesoderm, in Pfeilrichtung invaginierend. Eischale entfernt (verändert nach BENESCH, 1969).

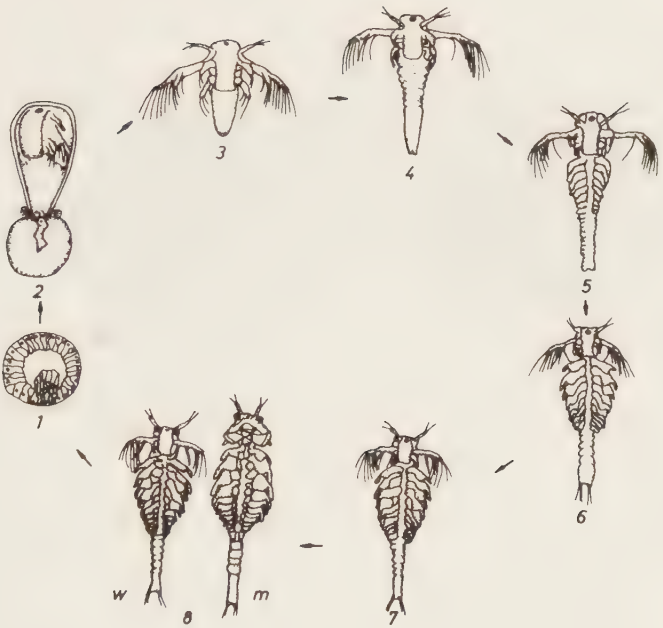

Abb. 4

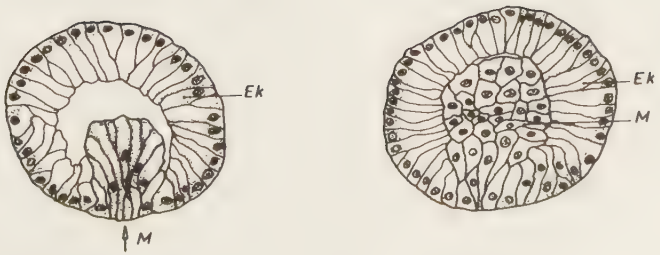

Abb. 6:
Frühes (links) und spätes (rechts) Stadium der zweiten Gastrulation. Eischale wegpräpariert (verändert nach BENESCH, 1969).
Ek = Ektoderm; Ent = Entoderm, in Pfeilrichtung invaginierend; N = Anlage des Neckorgans; M u. K = Mesoderm und Keimzellen; PM = Präantennenmesoderm.

Abb. 7:
Naupliusstadium; links Na 4, rechts Na 5 in Anlehnung an BENESCH, 1969. Eischale entfernt.
D = Hauptdarm; Ed = Enddarm; L = Labrum; N = Neckorgan.

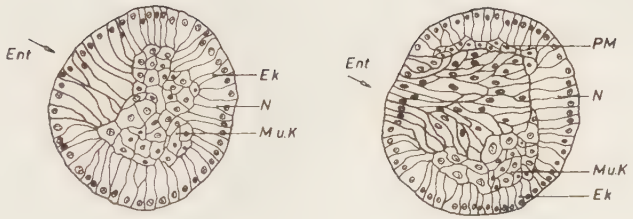

Abb. 6:

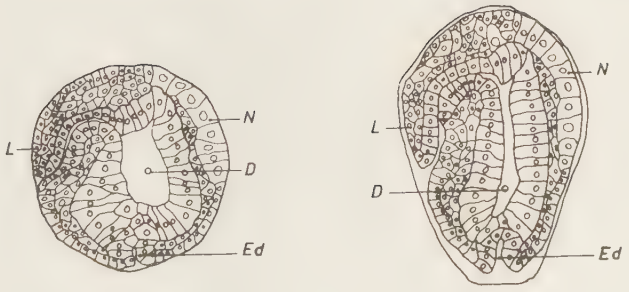

Abb. 7

Abb. 8:
Nauplius kurz vor dem Schlupf (hatching) in seinen Eihüllen. D = Darm; Ed = Enddarm; Ei = verlassene Eischale; H = Hämocoel; L = Labrum; N = Neckorgan.

Abb. 9:
ld-Nauplius, geschlüpft. Ganzkörperfoto.

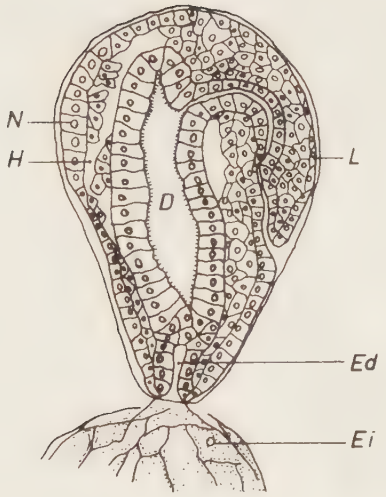

Abb. 8

Abb. 9

Abb. 10:
Nauplius ld; Medianschnitt.
Ak = Ankerzellen der Muskulatur; D = Hauptdarm;
Ed = Enddarm; Ek = Ektoderm; H = Hämocoel;
K = Keimzellen; L = Labrum; M = Mesoderm; N = Neckorgan; Oc = Ocellus; Ö = Ösophagus.

Abb. 11:
Nauplius ld; Frontalschnitt.
1.At = erste Antenne; 2.At = zweite Antenne;
D = Hauptdarm; Ed = Enddarm; Ek = Ektoderm;
G = Ganglienzellen und Querfasermasse des Nervensystems; H = Hämocoel; K = Keimzellen; M = Mesoderm;
Oc = Ocellus; Ö = Ösophagus.

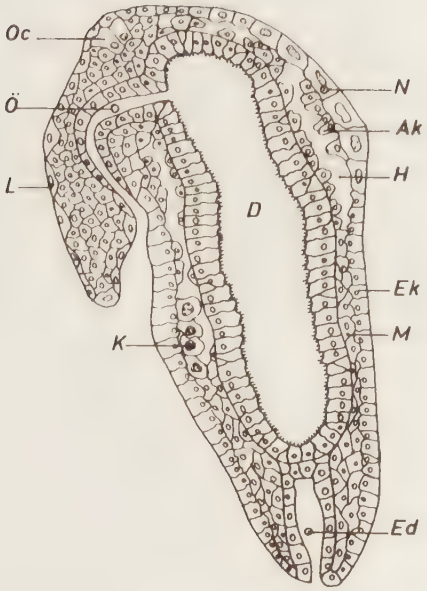

Abb. 10

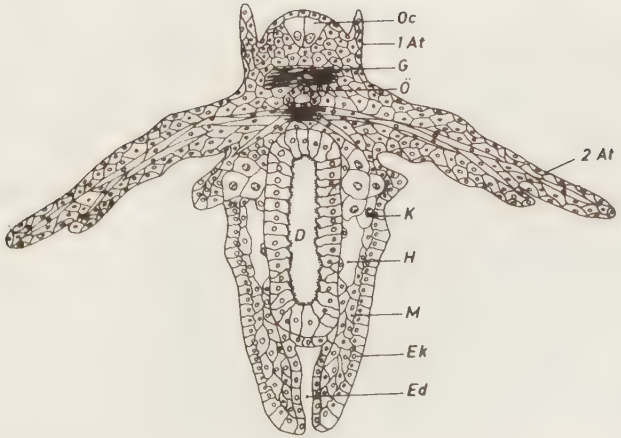

Abb. 11

Abb. 12:
Schnitt durch einen Embryo, bei dem makroskopisch keine Organentwicklung erkennbar war, mikroskopisch aber nachgewiesen werden konnte (Gruppe 2a). Der Embryo liegt in seinen Eihüllen, die Eischale ist wegpräpariert. Auf der rechten Seite ist die Labrumformation zu beobachten, während sich links die Kerne des Neckorgans darstellen und in der Mitte das Darmlumen sichtbar wird.

Abb. 13:
Histologischer Schnitt durch einen Embryo noch innerhalb der Eischale ohne makroskopisch und mikroskopisch differenzierbare Organentwicklung (Gruppe 2b).
In dem ungeordneten Zellkonglomerat sind vereinzelt Kerne zu beobachten.

Abb. 12

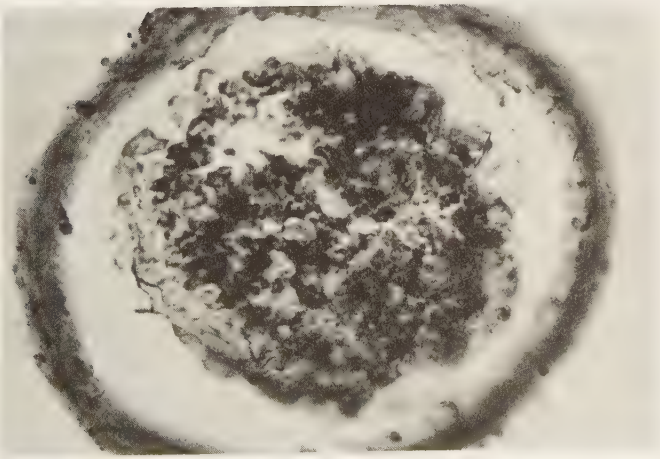

Abb. 13

Abb. 14:
Zusammenstellung von vier strahlengeschädigten ld-Nauplien. Oben zwei Tiere mit Extremitätenmißbildungen (Gruppe 4a), unten zwei Exemplare mit Doppelmißbildungen des Kopfes, des Abdomens und der Extremitäten (Gruppe 4c).

Abb. 15:
Zusammenstellung der Ergebnisse zu Gruppe 4a. Verschiedene Extremitätenmißbildungen, in der Mitte ein Normaltier zum Vergleich.

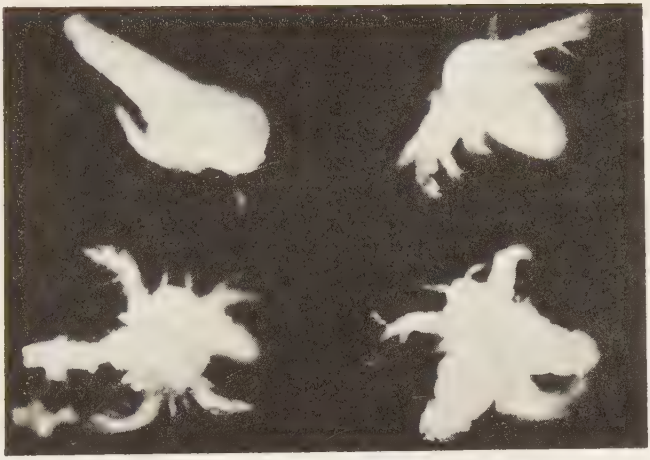

Abb. 14

Abb. 15

Abb. 16:
Nauplius ld, mit nach links und hinten verlaufender Deviation (Dev) des Abdomens (Gruppe 4b). Darunter ein Normaltier. Beide Zeichnungen in ventraler Ansicht.

Abb. 17:
Das gleiche Exemplar wie Abb. 16 nach der histologischen Aufarbeitung; Frontalschnitt.
1.At = erste Antenne; 2.At = zweite Antenne; D = Hauptdarm; Dev = Deviation des Abdomens; M = Mesoderm; Sp = Spaltraum im Mesoderm.

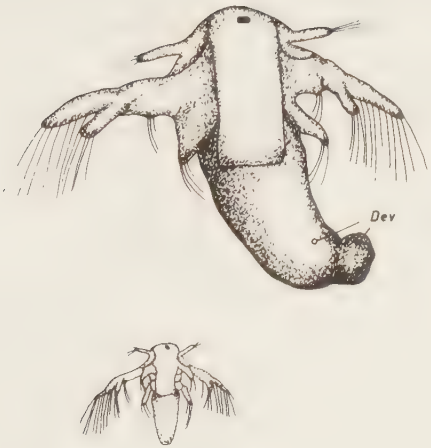

Abb. 16

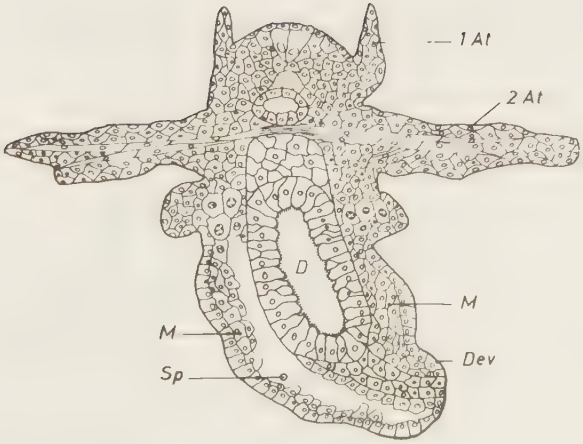

Abb. 17

Abb. 18:
Strahlenchimäre mit Doppelbildung des Abdomens (Ab) und Dreifachbildung der zweiten Antennen. Darunter ein Normaltier. Beides Ganzkörperzeichnungen in dorsaler Ansicht.
1.At = erste Antenne; 2.At. = zweite Antenne;
aAt = aberative zweite Antenne.

Abb. 19:
Die gleiche Strahlenchimäre wie in Abb. 18 in der histologischen Darstellung. Der Schnitt liegt analog zur Ganzkörperzeichnung (Gruppe 4c).
1.At = erste Antenne; 2.At = zweite Antenne;
aAt = aberative zweite Antenne; D = Hauptdarm;
Ed = Enddarm.

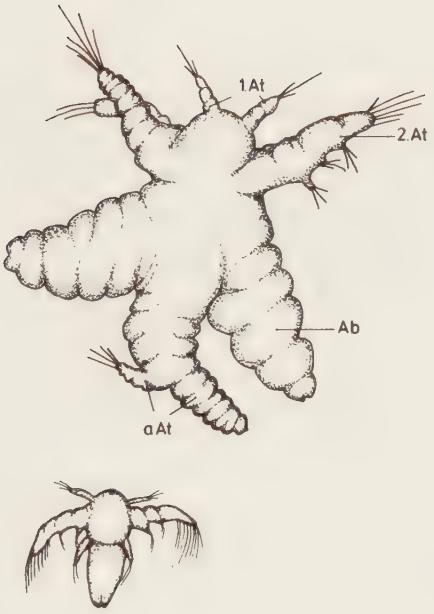

Abb. 18

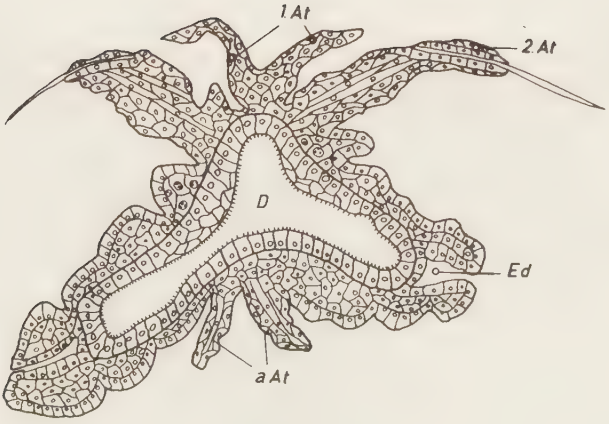

Abb. 19

Abb. 20:
Darstellung einer Malformation durch verdrängend wachsende Gewebe (Gruppe 4d). Die rechtseitige erste und zweite Antenne fehlt und es stellt sich eine Malformation im Bereich der gesamten rechten oberen Körperhälfte dar.
Darunter ein Normaltier 1d; beide in ventraler Ansicht.
Ab = Abdomen; 1.At = erste Antenne; 2.At = zweite Antenne; iP = makroskopisch erkennbares Äquivalent des als inferiorer Prozeß beschriebenen Gewebes; sP = makroskopisches Äquivalent des als superiorer Prozeß beschriebenen Gewebes.

Abb. 21:
Histologische Darstellung der gleichen Malformation wie Abb. 20. Die Schnittebene liegt in Analogie zur Ganzkörperzeichnung.
1.At = erste Antenne; 2. At = zweite Antenne; D = Hauptdarm, im oberen Bereich nach rechts abgedrängt; Ed = Enddarm; Ek = Ektoderm; iP = inferiorer Prozeß (Keimzellen); sP = superiorer Prozeß (Mesoderm- und Nervenzellen der Labrumformation); M = Mesoderm.

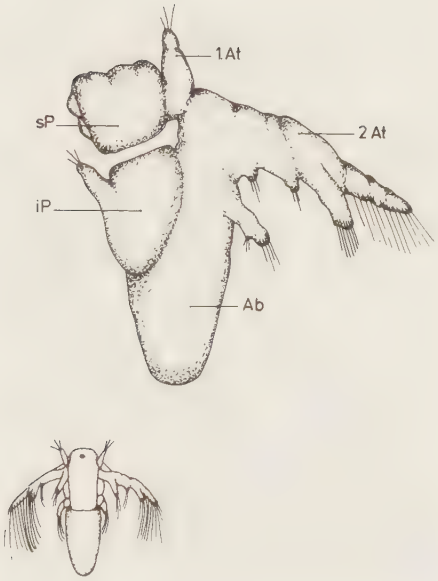

Abb. 20

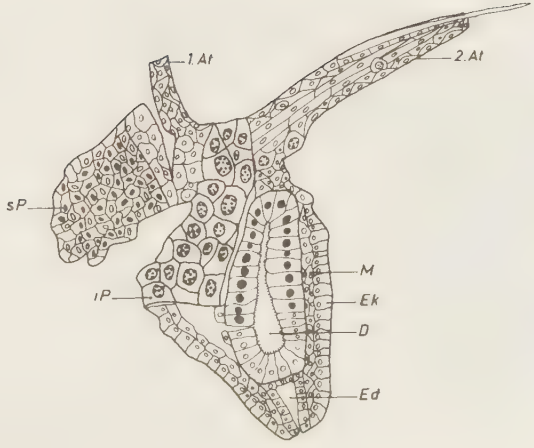

Abb. 21

Abb. 22:
Histologische Abbildung aus Schnittserien zu Abb. 17 und Gruppe 4b.

Abb. 23:
Histologische Abbildung aus Schnittserien zu Gruppe 4d und Abb. 21. Die Schnittebene liegt weiter ventral. Gut sichtbar stellt sich das keilförmige Wachstum des, als inferiorer Prozeß bezeichneten Gewebes dar, sowie die erhebliche Abdrängung des Hauptdarms und die Destruktion im Kopfbereich.

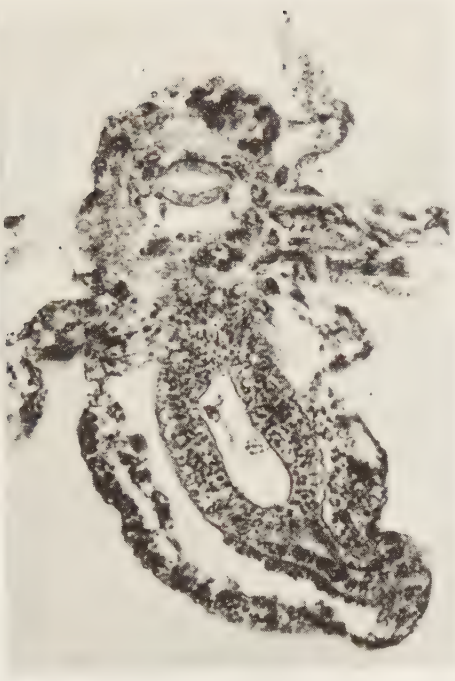

Abb. 22

Abb. 23

Abb. 24:
Längenwachstumskurve für Larven, die sich aus von Schweren Kernen getroffenen Eiern entwickeln, im Vergleich zu Flug- und Bodenkontrollen.

Abb. 25:
Verspätete Geschlechtsreife für Larven, die sich aus von Schweren Kernen getroffenen Eiern (n = 18) entwickeln, im Vergleich zu Artemien aus der Bodenkontrolle (n = 50) und der Flugkontrolle (n = 50).

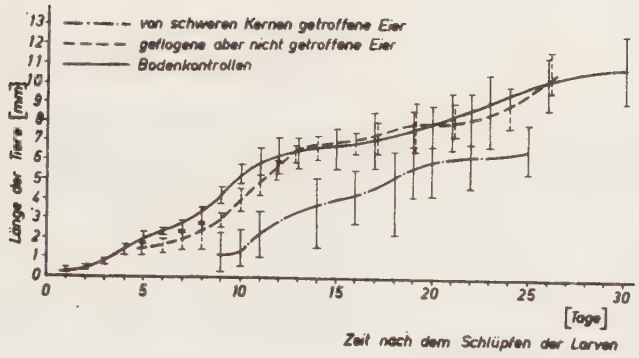
von schweren Kernen getroffene Eier
geflogene aber nicht getroffene Eier
Bodenkontrollen
Länge der Tiere [mm]
[Tage]
Zeit nach dem Schlüpfen der Larven

Abb. 24

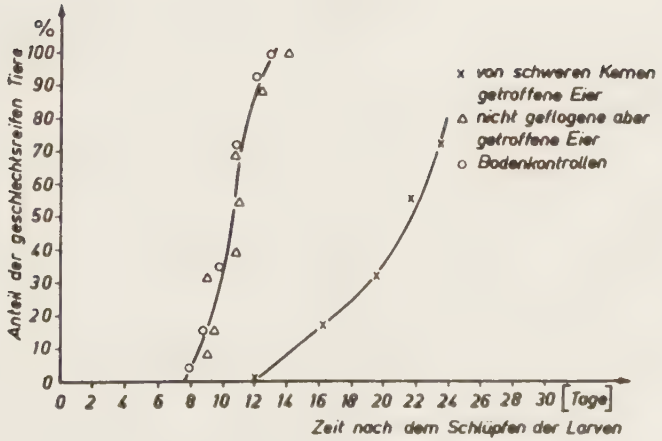
%
Anteil der geschlechtsreifen Tiere
x von schweren Kernen getroffene Eier
△ nicht geflogene aber getroffene Eier
○ Bodenkontrollen
[Tage]
Zeit nach dem Schlüpfen der Larven

Abb. 25

J. Literaturverzeichnis

ALLKOFER, O.C., SIMON, M.
Radiation exposure in Supersonic Transport by Solar Flares. Biophysik 6, (1969) 113-122.

ANDERSON, D.T.
Larval development and segment formation in the branchiopod crustaceans Limnadia stanleyana King (Conchostraca) and Artemia salina (L.) (Anostraca). Aust. J. Zool. 15, 47-91 (1967).

ANDERSON, E., LOCHHEAD, J.H., LOCHHEAD, M.S., HUEBNER, E.
The origin and structure of the tertiary envelope in thick-shelled of the brine shrimp, Artemia. J. Ultrastruct. Res. 32, 497-525 (1970).

ANTEUNIS, A., FAUTREZ-FIRLEFYN, N., FAUTREZ, J.
L'accolement des pronuclei de l'oeuf d'artemia salina. J. Ultrastruct. Res. 20, 200-210 (1967).

ANTEUNIS, A., FAUTREZ-FIRLEFYN, N., FAUTREZ, J.
Ultrastructure du nucléole expulsé dans le cytoplasme de l'oocyte d'artemia salina. C.R. Acad.Sci. (Paris), Sér. D., 266, 1862-1863 (1968).

ANGELOVIC, J.W., ENGEL, D.W.
Interaction of Gamma Irradiation and Salinity on Respiration of Brine Shrimp (Artemia Salina) Nauplii Rad. Res. 35, (1968) 102-108.

BAGSHAW, JOSEPH, C. FINAMORE, FRANK, J., NOVELLI, G.D.
Changes in transfer RNA in developing brine shrimp. (Biol. Div., Nat. Labor., Oak Ridge, Tenn.) Develop. Biol. 23, 23-35 (1970).

BALLADRIN, E., METALLI, P.
Effetto dei raggi X sulla durata della vita di vari ceppi di Artemia salina Leach. Bool. Zool.32, 587-602 (1965).

BALLADRIN, E., METALLI, P.
Sulla relazione fra poliploidia e radiosensiblità in ovocite di Artemia salina Leach. Bool. Zool. 32, 613-618 (1965).

BENDER, M.A., GOOCH, P.C., KONDO, S.
The Gemini-3 S-4 Spaceflight-Radiation Interaction Experiment Rad.Res. 31, (1967) 91-111.

BENESCH,R.
Zur Ontogenie und Morphologie von Artemia salina L. Zool. Jb., Abt. Anat. Ontog. 86, 307-458 (1969).

BENSON, R.E., PINSKY, L.S., LAWRENCE, S. — Visual Light Flash Phonomenon. Sec. 27, Part C, of the Apollo 16 Preliminary Science Report. NASA SP-315,(1972).

BENTON, E.V., HENKE, R.P. — "The HZE-particle exposure of the microbial ecology evaluation device (MEED) aboard Apollo 16." Technical Report No. 24, University of San Franzisco, Dpt. of Physics, Sept.(1972).

BENTON, E.V., HENKE, R.P. — "Heavy cosmic-ray exposure of Apollo 16 astronauts." Technical Report No. 20, University of San Franzisco, Dpt. of Physics, Aug.(1972).

BOAG, J.W., DOLPHIN, G.W., ROTBLAT, J. — Radiation Dosimetry by Transparent Plastics Rad.Res.9, (1958) 589-610.

BOND, V.P., EASTERDAY, O.D. — Effects of Heavy particle Irradiation on Acute Mortality and Survival Time in the Mouse Rad.Res.10, (1959) 20-29.

BOWEN, S.Th. — The Genetics of Artemia salina I. Biol.Bull.122, (1962) 25
The Genetics of Artemia salina II. Biol.Bull.17, (1963) 124.

BÜCKER, H. et al. — "Biostack Experiment M-211 Apollo 16 Quick Look Report, NASA Jun.5.72
First Quarterly Report,Sept.8.72
Second Quarterly Report,Dec.8.72.

BÜCKER, H. et al. — The Biostack Experiment on Apollo 16. Life Sciences and Space Research XI, Akademie Verlag (Berlin),(1973)295-305.

BÜCKER, H. et al. — Biostack I Experiment. Apollo 16. Preliminary Science Report. NASA SP-315 (1972).

BÜCKER, H. et al. — Biostack II Experiment. Apollo 17. Preliminary Secience Report. NASA SP-330 (1973).

BÜCKER, H. et al. — Biostack III Experiment. Apollo-Soyuz-Test-Project. Preliminary Science Report.

BÜCKER, H. — Die biologische Wirkung der kosmischen Teilchenstrahlung, Ergebnisse der BIOSTACK-Experimente im Apollo-Programm. Strahlenschutz in Forschung und Praxis Band XVI (1976).

BUDINGER, T.F., TOBIAS, C.A., LYMAN, J.T., CHAPMAN, P.K. et al. — Light Flash Phenomenon Seen by Astronauts, NASA CR-125 453,(1971).

BUTTS, J.J., KATZ, R. — Theory of RBE for Heavy Ion Bombardment of Dry Enzmes and Viruses. Rad.Res.30, (1967) 855-871.

CERVINI, A., GIALVELLI, S. — Radiosensitivity of different meiotic stages of oocytes in parthenogenetic diploid Artemia salina. Mutation Res. 2 (1965) 452.

CHASE, H.B. — Cutaneous Effects of Primary Cosmic Radiation. J. Aviation Med., vol.25 no.4, Aug.(1954),pp. 388-391.

CHASE, H.B., POST, J.S. — Damage and Repair in Mammalian Tissues Exposed to Cosmic Ray Heavy Nuclei. J. Aviation Med., vol.27, no.6, Dec.(1956),pp. 533-540.

CHRISTENSEN, R.C., TOBIAS, C.A. — Heavy-ion-induced single- and double strand breaks in X-1 j4 replicative form DNA. Int.J.Rad.Biol.22, (1972) 5, 457-477.

CLEGG, J.S. — Metabolic studies of cryptobiosis in encysted embryos in Artemia salina. Comp.Biochem.Physiol.20, 801-809 (1967).

CLEGG, J.S., GOLUB, A.L. — Protein synthesis in Artemia salina embryos. II. Resumption of RNA and protein synthesis upon cessation of dormancy in the encysted gastrula. Develop.Biol.19, 178-200 (1969).

CONGER, A.D., RANDOLPH, M.L. — Magnetic Centers (Free Radicals) Produced in Cereal Embryos by Ionizing Radiation. Rad.Res. 11, (1959) 54-66.

CURTIS, H.J. ,
SMITH, H.H.
Corn Seeds Affected by Heavy Cosmic Ray Particles. Science, vol.141, no. 3576, July 12, 1963, pp. 158-160.

CURTIS, H.J.
The Effect of a Deuteron Microbeam on Graying of Hair. Radiation Res. 18, (1963) 510-515.

D'AGOSTINO, A.S.,
PROVASOLI, L.
Effects of salinity and nutrients on mono and diaxenic cultures of two strains of Artemia salina. Biol.Bull, 134, 1-14 (1968).

DEERING, R.A.,
RICE, R.
Heavy Ion Irradiation of HeLa Cells. Rad.Res. 17, (1962) 774-786.

DEERING, R.A.,
HUTCHINSON, F. ,
SCHAMBRA, P.E.
IV. Biological effects of accelerated heavy ions . Aerospace Medicine(1961).

DOHSE, H.
Artemia en gros. Ein Beitrag zur Aufzucht und Vermehrung von Artemia salina. DATZ XXIII (1970).

DOLPHIN, G.W. ,
HUTCHINSON, F.
The action of Fast Carbon and Heavier Ions on Biological Materials Rad.Res. 13, (1960) 403-414.

DUTRIEU, J.,
CHRESTIA-BLANCHINE, D.
Resistance des oeufs durables hydratés d'Artemia salina à l'anoxie. C.R. Acad. Sci. (Paris), Sér.D.263 998-1000 (1966).

EASTER, St.S.,
HUTCHINSON, F.
Effects of Radiations of Different LET on Artemia salina Eggs. Rad.Res.15, (1961) 333-340.

EMERSON, D.N.
Surface aerea respiration during the hatching of encysted embryos of the brine shrimp, Artemia salina. Biol.Bull.132, 156-160 (1967).

ENGEL, D.W.,
ANGELOVIC, J.W.
The influence of salinity and temperature upon the respiration of brine shrimp nauplii. Comp.Biochem.Physiol.36, 749-752 (1968).

EUGSTER, J.
Zur biologischen Wirkung der kosmischen Strahlen im menschlichen Körper. Raktentechnik- und Raumfahrtforschung vol.7, Oct.-Dec.(1963), pp. 163-165

EUGSTER, J. — Mutationen durch kosmische Strahlung. Bild der Wissenschaft 2, (1964) 26.

EUGSTER, J. — Weltraumstrahlung Verlag Hans Huber, Bern und Stuttg.195!

EUGSTER, J. — Zur biologischen Wirkung der kosmischen Strahlung in großen Höhen. Raketentechnik und Raumfahrtforschung Bd.IV (1960).

FAUTREZ, J., FIRLEFYN, N. — Les mounements des mitochondries au cours des premieres division de segmentation de L'oeuf d'Artemia salina. Am Soc.Roy.Zool.Belg.90 (1960) 73.

FAUTREZ, N., FIRLEFYN, N. — A propos de la localisation du noyun dans les blastomeres de l'oeuf d' Artemia salina. Develop.Biol. 6, (1963) 250.

FAUTREZ, J., FAUTREZ-FIRLEFYN,N. — Produktion expérimentale d'une gastrulation précoce de L'oeuf d' Artemia salina. C.R.Acad. Sci. (Paris), Sér. D, 267, 98-99 (1968).

FAUTREZ-FIRLEFYN, N., FAUTREZ,J. — A propos de l'influence de l' hydroxycurée sur les oeufs fécondés et indivis d'Artemia salina. C.R.Acad.Sci. (Paris), Sér. D, 269, 2399-2400 (1969).

FAUTREZ,J., FAUTREZ-FIRLEFYN, N. — Recherches sur la réversibilité de l'action de l'hydroxyurée sur l' oeuf d'Artemia salina. C.D. Acad.Sci.(Paris), Sér.D, 270, 126-127 (1970).

FLÓREZ-COSSIO, T.J. — Über die Kombination von Glutaraldehyd und Methanol als Fixationsgemisch in der Lichtmikroskopie und Autoradiographie. Microsc. Akta (im Druck).

GOLUB, A., CLEGG,J.S. — Protein synthesis in Artemia salina embryos. I. Studies on polyribosomes. Develop.Biol.17, 644-656 (1968).

GRAUL, E.H. — Weltraummedizin, Ullstein-Verlag (1970).

HENTSCHEL, E. — Experimentelle Untersuchungen zum Häutungsgeschehen geschlechtsreifer Artemien (Artemia salina Leach, Anostraca, Crustacea). Zool. Jb-r, Abt. allg. Zool. Physiol. 73, 336-342 (1967).

HENTSCHEL, E. — Die postembryonalen Entwicklungsstadien von Artemia salina Leach, bei verschiedenen Temperaturen (Anostraca, Crustacea). Zool. Anzeiger 180, (1968) 372-384.

HINTON, H.E. — XXVIII.-Resistance of dry eggs of Artemia salina L. to high temperatures Ann.Nat.Hist. 7, (1954) 158-160.

HIRONDO, Y., SMITH, H.H., LYMAN, J.T., THOMPSON, K.H., BAUM, J.W. — Relative Biological Effectiveness of Heavy Ions in Producing Mutations, Tumors, and Growth Inhibition in the Crucifer Plant, Arabidopsis. Rad.Res. 44, (1970) 204-223.

HUTCHINSON, F., EASTER, S. — A defference between biological effects of gamma rays and heavy ions. Science 132, (1960) 1311.

INDER, CH.B. — The effects of salinity on growth and form of artemia salina (L.). J. Exp.Zool.153, (1963) 279-283.

IWASAKI, T., MARUYAMA, T. — Comparative effects of ^{60}Co γ-rays and 29 MeV electrons on Artemia. Int.J.Rad.Biol.20, (1971) 5, 493-496.

IWASAKI, T., MARUYAMA, T. — Effects of fast neutrons and ^{60}Co γ rays on artemia. Rad.Res. 45, (1971) 288-298.

IWASAKI, T. — Sensitivity of artemia eggs to γ irradiation IX. A correlation between radiation-induced free radicals and hatchability in eggs exposed to ß-mercaptoethylamine. Int.J.Rad.Biol. 20, (1971) 1, 39-47.

IWASAKI, T. — Incorporation of ^{3}H-thymidine during oogenesis in Artemia salina. Annot. zool. jap. 43, 132-141 (1970).

IWASAKI, T. — Chromosome number of Artemia salina obtained in the great Salt Lake, Utah, USA
Jap. J. Genet.44, 105-106 (1969).

IWASAKI, T. — The effects of water content on x-ray sensitivity in artemia eggs
J.Radiat.Res.5, 69 (1964).

IWASAKI, T. — Sensitivity of artemia eggs to γ-irradiation VII. Relationship between the degree of biological damage and the decay of free radicals in irradiated eggs.
Int.J.Rad.Biol. 9, (1965) 6, 573.

IWASAKI, T. — Sensitivity of artemia eggs to γ-irradiation.
Memoirs of the College of Science, University of Kyoto, Series B, XXXII, (1966) 3, (Biology).

IWASAKI, T. — Sensitivity of artemia eggs to γ-irradiation VIII. Modification of amount of radiation-induced free radicals by post-irradiation treatments.
Int.J.Rad.Biol.11, (1966) 2, 153-159.

IWASAKI, T. — Onset of ^{3}H-Thymidine Incorporation during Embryonic Development in Nauplius of Artemia salina.
Annot.Zool.Japan.42 (1969) 153-156.

KATZ,R., ACKERSON,B., HOMAYOONFAR,M., SHARMA, S.C. — Inactivation of cells by heavy ion bombardment. Rad.Res.47, (1971) 402-425.

KATZ, R. — Practicle Detection and Cellular Inactivation. AS/Science/BPS (25) 7 (1973) (Council of Europe).

KELLERER, A.M., ROSSI, H.H. — RBE and the primary mechamism of radiation action. Rad. Res. 47, (1971) 15-34.

LANGHAM, W.H. — Radiobiological Factors In Manned Space Flight.
National Acad. of Science
National Res. Council
Washington, D.C. (1967).

LAMB, M.J., SMITH, J.M. — Radiation and aging in Insects. Exptl. Gerontol. 1, (1964) 11.

LEITH, J.T., SCHILLING, W.A., WELCH, G.P. — Survival of mouse-skin epithelial cells after heavy-particle irradiation. Int.J.Rad.Biol. 19, (1971) 6, 603-609.

LOCHHEAD, H.J. — Studies on the blood and related tissues in artemia (Crustacea anostraca). J.Morph. 68, (1941) 593.

LOOSLI, R. — Zur Aufzucht und Entwicklung von Artemia salina. Universität Zürich (1952) (Dissertation).

MASON, D.T. — The growth response of artemia salina (L.). To various feeding regimes. Crustaceanea 5, (1963) 138.

METALLI, P., BALLARDIN, E. — Radiobiology of Artemia: Radiation effects and ploidy. Rad.Res.Quarterly 7, (1970-72) 181-240.

MORRIS, J.E. — Reversible Hydratation und Entwicklungs beginn beim Salinenkrebschen, Artemia salina. (Hydration its reversibility and the beginning of development in the brine shrimp, Artemia salina). Comp.Biochem.Physiol.A, 39, 843-857 (1971).

MORRIS, E., AFZELIUS, B.A. — The structure of the shell and outer membranes in encysted Artemia salina embryos during cryptobiosis and development. (Die Struktur der Hülle und der äußeren Membranen bei encystierten Embryonen von Artemia salina während Kryptobiose und Entwicklung). J. Ultrastructure Res. 20, 244-259 (1967).

MURAMATSU, S. — Studies on the physiology of artemia embryos. I. Respiration and its main substrate during the early development of the encysted embryo. Embryologia 5, (1960) 1, 95-106.

NAKANISHI, Y.H., OKIGAKI, T., KATO, H., IWASAKI, T.	Cytological studies of artemia salina. Annot. Zool.Jap. 35, (1962) 223-228 I. Proc.Jap.Acad. 39, (1963) 306-309 II.
NILSSON, M.O., HULTIN, T.	Evidence of a store informational RNA in encysted embryos of artemia salina. Exp.Cell Res. 72, (1972) 145-149 .
PFISTER, A. et al.	Lesional Effects of Primary Cosmic Heavy Ion on Rat Brain. AS/Science/ Phys. Council of Europe (27) PV 2 (1976).
PLANEL, H.	Influence des vols spatiaux, Apollo 16 et Apollo 17 sur le developpment de l'oeuf d'Artemia salina. AS/Science/BPS Council of Europe (25) 12 (1973).
RÜTHER, W. et al.	Preliminary results on the action of cosmic heavy ions on the developments of eggs of Artemia salina XVI Cospar meeting (1973), Konstanz.
SALLMANN, v.L. et al.	The Effect of a Deuteron Mikrobeam on the Mouse Crystalline Lens. A.M.A. Arch. Ophthalmol. 67, (1962) 163-170.
SARANA, THOMPSON, BOWEN	The genetics of artemia salina. I. The reproductive cycle. Biol. Bull. 122, (1962) 25.
SCHAEFER, H.J., SULLIVAN, J.J.	Nuclear emulsion recordings of the astronauts radiation exposure on the first lunar landung mission apollo XI NASA Joint Report June(1970) CR-11 58 04.
SNIPES, W.C., HULTIN, T.	Radiation damage to artemia cysts: Effects of wate vapor. Science 142, (1963) 503-504 .
SQUIRE, R.D., GROSCH, D.S.	The effects of acute gamma irradiation on the brineshrimp, artemia.I. life spans and male reproductive performance. Biol.Bull.139, (1970) 363-374 .

SQUIRE, R.D. — The effects of acute gamma irradiation on the brine shrimp, Artemia. II. Female reproductive performance. Biol.Bull.139, 375-385 (1970).

URBANI, E. — Comparative biochemical studies on amphibian and invertebrate development. Advancies Morph. 2, (1953) 61.

WEISZ, P.B. — The histological pattern of metameric development in artemia salina. J. Morph. 81, (1974) 45-95.

WEISZ, P.B. — The space - time pattern of segmental formation in artemia salina. Biol.Bull. 91, (1946) 119-140 .

WHITAKTER, D.M. — The tolerance of artemia cyst for cold and high vacuum. J. Exptl. Zool. 83, (1940) 391-399 .

YAGODA, H., BEHAR, A., DAVIS, R.L. KRANER, K.L. et al. — Brain Study of Mice Exposed to Cosmic Rays in the Stratosphere and Report of Nuclear Emulsion Monitoring. In Four Balloon Flights From Bemidji, Minnesota, July-August,(1960). Military Med. vol. 128, no. 7 July(1963),pp. 655-672.

Mein Dank gilt den Herren Professoren Dr. Castenholz, Dr.Dr. E.H. Graul und Dr. H. Kern, die mir freundlicherweise die Einrichtungen Ihrer Institute zur Verfügung gestellt haben.
Den medizinischen Assistentinnen, Fotolaboranten und -laborantinnen sei Dank für ihre praktische Hilfe.
Meine ganz besondere Anerkennung möchte ich an die Herren Dr. Flórez-Cossio, Dr. Paul und Dr. Rüther richten, die mir tatkräftig mit Rat, Wissen, Erfahrung, Anleitung, Anregung und vor allem mit großer Geduld zur Seite gestanden haben.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

Amon
Bode
Buchholz
Dittrich
Dombrowski
Doss
Eißner
Eschenbach
Exner
Friederich
Ganz
Gerdes
Geus
Golenhofen
Graul
Haberich
Hamelmann
Hardewig
Havemann
Heinecker
Hensel
Hering
Hess
Hildebrandt
Hilgermann
Hort
Ihm
Jacob
Joseph
Kaffarnik
Karlson
Klaus
Klein
Kleinsasser
Koransky
Knoll
Lange
Lauer
Linneweh
Lütcke
Mannheim
Maroske
Martini
Müller
Neurath
Oepen
Petry
Pohlen
Popp
Portig
Pots
Riecken
Rohen
Rodeck
Rupec
Schaumlöffel
Schmid
Schmitz-Moormann
Schneider
Siegert
Siegrist
Sodomann
Stäcker
Stockhausen
Straub
Stutte
Thönes
Voss
Welge-Lüssen
Wendt
Wesemann
Willenbockel

Lebenslauf

Name	:	Joachim Lukassowitz
Geburtsort	:	Andreashütte/Oberschlesien
Geburtstag	:	17.08.1951
Eltern:	:	Ernst Lukassowitz und Maria Lukassowitz geb. Brylla
Schulen	:	Volksschule von 1958 bis 1963 Realschule von 1963 bis 1968 Gymnasium von 1968 bis 1971
Hochschulreife	:	Erwerb der Hochschulreife am 21.05.1971 des Staatlichen Mädchengymnasiums Siegen/Westfalen.
Universität	:	Beginn des Studiums im Wintersemester 1971/1972 an der Universität Marburg als Student der Medizin.
Hochschulprüfungen	:	Naturwissenschaftliche Vorprüfung 1972 Ärztliche Vorprüfung 1973 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung 1974 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung 1976 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung 1977 Dissertation von 1974 bis 1977